

Untersuchungen zum Einfluss von Phosphatbelastung
auf Stressreaktionen von Gräsern
am Standort „Steudnitz“

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades doktor rerum naturalium
(Dr. rer. nat.)

vorgelegt dem Rat der Chemisch-Geowissenschaftlichen Fakultät der
Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Diplom-Trophologe Remo Rothe

geboren am 22.10.1975 in Jena

Gefördert durch die DFG im Rahmen des Graduiertenkollegs 266 „Funktions- und Regenerationsanalyse belasteter Ökosysteme“

Gutachter: Prof. Dr. Hans Bergmann, Institut für Geowissenschaften,
Friedrich-Schiller-Universität Jena

Prof. Dr. Georg Büchel, Institut für Geowissenschaften,
Friedrich-Schiller-Universität Jena

Tag der öffentlichen Verteidigung: 15.07.2009

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis.....	vi
Abbildungsverzeichnis.....	viii
Verwendete Abkürzungen.....	xii
Wissenschaftliche und deutsche Bezeichnung aufgeführter Pflanzenspezies.....	xiii
1. Einleitung und Zielstellung	1
1.1. Charakterisierung des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“	1
1.2. Phosphor (P) als Phosphat im System Boden-Pflanze	4
1.3. Stress bei Pflanzen.....	6
1.3.1. Oxidativer Stress – reaktive Sauerstoffspezies, Sauerstoffaktivierung und Superoxid-Dismutasen	8
1.3.2. Stress durch Schwermetalle am Beispiel Cadmium	9
1.3.3. Stress durch P-Überschuss?	11
1.3.4. Stressmetabolismus mit Schwerpunkt N-Stoffwechsel und freie Aminosäuren	12
1.4. Zielstellung der Arbeit	14
2. Material und Methoden.....	16
2.1. Lage der Bodenproben-Entnahmestellen und der Versuchsflächen im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“	16
2.2. Bodenuntersuchungen	18
2.2.1. Bodenprobenahme	18
2.2.2. pH-Wert-Messung und Maximale Wasserhaltekapazität im Boden.....	18
2.2.3. Pflanzenverfügbarer Phosphor im Boden	19
2.2.4. Pflanzenverfügbarer Stickstoff im Boden	20
2.2.5. Königswasseraufschluss der Bodenproben.....	21
2.2.6. Bestimmung der Elementgehalte mit der ICP-OES	21
2.3. Pflanzenversuche – Versuchsaufbau und Kultivierung der Pflanzen	22
2.3.1. Versuchsaufbau des <i>Gefäßversuches A</i>	22
2.3.2. Versuchsaufbau des <i>Gefäßversuches B</i>	24
2.3.3. Kultivierung der Pflanzen in den <i>Gefäßversuchen A</i> und <i>B</i>	24
2.3.4. <i>Versuch C</i> - Versuchsaufbau und Wachstumsbedingungen der im Freiland kultivierten Pflanzen.....	25

2.4. Pflanzenuntersuchungen.....	26
2.4.1. Mikrowellen-Druck-Aufschluss zur Elementbestimmung in Pflanzenmaterial	26
2.4.2. Messung der Chlorophyll-Fluoreszenz.....	27
2.4.3. Bestimmung des Stressmetaboliten <i>freie</i> Aminosäure Prolin.....	28
2.4.4. Extraktion der in Phosphat-Puffer löslichen Proteine.....	29
2.4.5. Bestimmung des löslichen Proteingehaltes nach Bradford.....	29
2.4.6. Enzymatische Untersuchungen.....	30
2.4.6.1. Nachweis der Superoxid-Dismutasen mit der nichtdenaturierenden Polyacrylamid-Gelelektrophorese (Native-PAGE) und anschließender Zymographie	30
2.4.6.2. Hemmtest zur Identifikation der Superoxid-Dismutase-Isoenzyme	31
2.4.6.3. Größenbestimmung der Superoxid-Dismutasen mit der denaturierenden Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) und anschließender Zymographie	32
2.5. Statistische Methoden	32
3. Ergebnisse.....	34
3.1. Belastungssituation in der Durchwurzelungszone am Transekt des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“ 2003/2004	34
3.1.1. Einschätzung der bodenchemischen Situation am Belastungsstandort mittels Clusteranalyse.....	34
3.1.2. Differenzierte Betrachtung der Bodenparameter.....	36
3.1.2.1. Boden-pH-Wert	36
3.1.2.2. P-Status – Gesamt-P und pflanzenverfügbarer P als <i>Olsen P</i>	37
3.1.2.3. N-Status – mit Schwerpunkt pflanzenverfügbarer N	38
3.1.2.4. Gesamtgehalte von Al, Ca, Cd, Fe, K, Mg, Mn, Na und Zn sowie Korrelationen und Elementverhältnisse im Boden nach Königswasseraufschluss.....	40
3.2. Stressreaktion von Gräsern auf P-Mangel oder P-Überschuss und Möglichkeit der Beeinflussung durch Calciumcarbonat – Gefäßversuch A	43
3.2.1. Auswirkungen unterschiedlicher P-Konzentrationen im Boden auf die Elementaufnahme untersuchter Gräser.....	43
3.2.1.1. Elementgehalte in Spross- und Wurzelgeweben.....	45
3.2.1.2. Ausnutzung des Elementangebots im Bodensubstrat	47
3.2.1.3. Verhältnis der Elementkonzentrationen im Spross unter differenziertem P- Angebot	48
3.2.2. Auswirkung auf die morphologischen Parameter und das Spross/Wurzel-Verhältnis....	49

3.2.3.	Veränderungen am Photosyntheseapparat der Pflanzen bestimmt als effektive und maximale Quantenausbeute (Chlorophyll-Fluoreszenz)	51
3.2.4.	Veränderung des freien Prolingehaltes – eine Stressantwort der Pflanzen.....	53
3.2.5.	Veränderungen des löslichen Proteingehaltes	55
3.2.6.	Superoxid-Dismutasen-Aktivität unter P-Stress	56
3.2.6.1.	Gelelektrophoretische Charakterisierung der Superoxid-Dismutasen in <i>Arrhenatherum elatius</i> , <i>Elymus repens</i> und <i>Avena sativa</i>	56
3.2.6.2.	Aktivitäten der Superoxid-Dismutasen bei P-Stress - Densitometrische Auswertung	58
3.2.7.	Pflanzenstress induzierte Veränderungen des Boden-pH-Wertes	60
3.3.	Einfluss einer Erhöhung des pflanzenverfügbaren N und P in standorttypischem Bodensubstrat auf Wachstum, Mineralelement- und Stress-Status von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> – Gefäßversuch B Teil 1	62
3.3.1.	Einfluss auf Wachstum und Biomassebildung	62
3.3.2.	Auswirkungen auf die Elementaufnahme untersuchter Gräser	63
3.3.3.	Beeinflussung der pflanzlichen Stressreaktion durch die N- und P-Düngung	66
3.4.	Einfluss einer Applikation des Stresstoleranzaktivators 2-Aminoethanol und des Mikronährstoffes Fe als Chelat auf den Mineralelementstatus, die Produktivität und die Stressantwort von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i>– Gefäßversuch B Teil 2.....	68
3.4.1.	Veränderung des Mineralelementstatus.....	69
3.4.2.	Wirkung von Fe-Chelat und 2-Aminoethanol auf Produktivität und Stressantwort applizierter Gräser	71
3.5.	Freilanduntersuchung zu Möglichkeiten der produktivitätswirksamen Stressbeeinflussung in Gräsern bei hohen P-Überschüssen und niedrigen N_{min}-Konzentrationen im Boden – Versuch C	74
3.5.1.	Wirkung stressbeeinflussender Maßnahmen auf die Elementaufnahme untersuchter Gräser im Freiland.....	75
3.5.2.	Einfluss von N, P, Fe-Chelat und 2-Aminoethanol auf Produktivität und Stressantwort untersuchter Gräser im Freiland	78
3.6.	Die pflanzliche Cd-Aufnahme aus Boden vom Standort „Steudnitz“ und ihre Veränderung durch stressbeeinflussende Maßnahmen untersucht im Modellversuch (Gefäßversuch B) und im Freiland (Versuch C).....	81
4.	Diskussion	84
4.1.	Der Status standorttypischer Bodenparameter im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ 15 Jahre nach Schließung des früheren Düngemittelwerkes	84

4.2. Die Wirkungen von P im Boden auf die Stressreaktion von Gräsern und ihre Bedeutung für den Standort „Steudnitz“	86
4.2.1. P-Mangel	87
4.2.2. P-Überschuss	89
4.2.3. Bedeutung der im Modellversuch gewonnenen Erkenntnisse für den Standort „Steudnitz“	93
4.3. Der N-Status im Boden und sein Einfluss auf die Stressreaktion von Gräsern	94
4.4. Beeinflussung der Stressreaktion in Gräsern durch eine Bodenbehandlung mit Calciumcarbonat oder Fe-Chelat oder durch eine Pflanzenbehandlung mit 2-Aminoethanol	96
4.4.1. Bodenbehandlung mit Calciumcarbonat (CaCO ₃)	97
4.4.2. Bodenbehandlung mit Fe-Chelat	98
4.4.3. Pflanzenbehandlung mit 2-Aminoethanol	100
4.5. Charakterisierung der Superoxid-Dismutase-Isoenzyme in <i>Arrhenatherum elatius</i>, <i>Elymus repens</i> und <i>Avena sativa</i>	101
4.6. Artspezifische geo-pedogen beeinflusste Konkurrenzstrategien steuern die Ausbreitung von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> bei sich ändernden Umweltbedingungen am Standort „Steudnitz“	102
4.7. Der Cd-Gehalt im Boden und die Risikobewertung der pflanzlichen Cd-Aufnahme am Standort „Steudnitz“	105
5. Zusammenfassung	108
6. Quellennachweis	114
Anhang	128
Danksagung	151
Selbstständigkeitserklärung	152
Lebenslauf	153

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1:	GPS-Positionen der Bodenproben-Entnahmestellen und der Versuchsflächen im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“	17
Tabelle 2.2:	ICP-OES - Gemessene Elemente und verwendete Standardlösungen	21
Tabelle 2.3:	Aufbau des <i>Gefäßversuches A</i>	23
Tabelle 2.4:	<i>Gefäßversuches A</i> - Grunddüngung des Sandsubstrates.....	23
Tabelle 2.5:	Aufbau des <i>Gefäßversuches B</i>	24
Tabelle 3.1:	Mittelwerte ausgewählter bodenchemischer Parameter ¹⁾ für die ermittelten Gruppen unterschiedlicher Belastung (Cluster) am Transekt des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“ und der Referenzstelle mit Angabe der Richtwerte für deutsche Böden .	36
Tabelle 3.2:	Verhältnis Gesamt P/ <i>Olsen P</i> am Transekt des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“ und der Referenzstelle	38
Tabelle 3.3:	Elementproportionen der in der Clusteranalyse ¹⁾ ermittelten „Belastungsgruppen“ (Cluster) im Vergleich zu „normalen“ Relationen ²⁾	42
Tabelle 3.4:	<i>Gefäßversuch A</i> – Übersicht zur Aufnahme von Ca, Mg, P, K, Na, Fe, Mn und Zn in Spross- und Wurzelgewebe untersuchter Gräser bei P-Mangel und P-Überschuss im Boden unter Abwesenheit und mit CaCO ₃ im Vergleich zum P-Optimum	45
Tabelle 3.5:	<i>Gefäßversuch A</i> – Mineralelementkonzentrationen im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> bei unterschiedlichen Boden-P-Gehalten ¹⁾ , ohne und mit 6500 mg CaCO ₃ -Zusatz ²⁾	46
Tabelle 3.6:	<i>Gefäßversuch A</i> – Mineralelementtransfer in die oberirdische Biomasse von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> bei 25, 140 und 500 mg P kg ⁻¹ BoTM und Elementgehalt des Bodens.....	47
Tabelle 3.7:	<i>Gefäßversuch A</i> – Physiologisch bedeutsame Elementverhältnisse im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> bei P-Mangel, P-Optimum und P-Überschuss (25, 140 und 500 mg P kg ⁻¹ BoTM) in <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> ohne und mit 6500 mg CaCO ₃	48
Tabelle 3.8:	<i>Gefäßversuch A</i> – Änderung der Trockenmasse im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> , <i>Elymus repens</i> und <i>Avena sativa</i> bei unterschiedlichen P-Gehalten im Boden ohne und mit 6500 mg CaCO ₃ -Zusatz.....	49
Tabelle 3.9:	<i>Gefäßversuch A</i> - Spross/Wurzel-Verhältnisse der Trockenmassen	51
Tabelle 3.10:	<i>Gefäßversuch A</i> – Konzentrationen <i>freien</i> Prolins im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i>	53
Tabelle 3.11:	<i>Gefäßversuch A</i> – Lösliches Sprossprotein nach Bradford (1976) von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> bei unterschiedlicher Phosphordüngung ohne und mit 6500 mg kg ⁻¹ BoTM CaCO ₃ -Zusatz	55

Tabelle 3.12:	Molekulargewichte der in Spross- und Wurzelgeweben nachgewiesene Superoxid-Dismutasen von <i>Arrhenatherum elatius</i> , <i>Elymus repens</i> und <i>Avena sativa</i>	57
Tabelle 3.13:	<i>Gefäßversuch A</i> - Δ pH-Werte als Differenzen von Gefäßböden mit Pflanzenbewuchs abzüglich gleichbehandelter Kontrollböden ohne Bewuchs bei unterschiedlichen Phosphorgehalten im Boden unter Abwesenheit und mit CaCO_3	61
Tabelle 3.14:	<i>Gefäßversuch B</i> Teil 1 - Wirkung von N- und P-Zufuhr auf die Spross- und Wurzeltrockenmasse von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> im Modellversuch bei P-Exzess im Boden	63
Tabelle 3.15:	<i>Gefäßversuch B</i> Teil 1 - Mineralelementkonzentrationen (Ca, Mg, P, K, Na, Fe, Mn, Zn) im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach N- und P-Düngung im Modellversuch mit P-Exzess im Boden.....	64
Tabelle 3.16:	<i>Gefäßversuch B</i> Teil 1 - Mineralelementaufnahme in die oberirdische Biomasse von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach N- und P-Düngung	65
Tabelle 3.17:	<i>Gefäßversuch B</i> Teil 1 - Ausgewählte Elementverhältnisse im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach N- oder P-Düngung bei P-Exzess im Boden.....	66
Tabelle 3.18:	<i>Gefäßversuch B</i> Teil 1 – Konzentration an freiem Prolin und löslichem Protein sowie Prolin-N/Protein-N-Verhältnis im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach Erhöhung des verfügbaren N- und P-Gehaltes im Boden	67
Tabelle 3.19:	<i>Gefäßversuch B</i> Teil 2 - Mineralelementkonzentrationen (Ca, Mg, P, K, Na, Fe, Mn, Zn) im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach Fe-Düngung und Blattapplikation von 2-Aminoethanol bei P-Exzess im Boden	70
Tabelle 3.20:	<i>Gefäßversuch B</i> Teil 2 – Physiologisch interessante Konzentrationsverhältnisse von Elementen im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach Fe-Düngung und Blattapplikation von 2-Aminoethanol bei P-Exzess im Boden	71
Tabelle 3.21:	<i>Gefäßversuch B</i> Teil 2 - Änderung der Spross- und Wurzeltrockenmasse von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach Fe-Düngung und Blattapplikation von 2-Aminoethanol bei P-Überschuss im Boden.....	71
Tabelle 3.22:	<i>Gefäßversuch B</i> Teil 2 – Konzentration an freiem Prolin und löslichem Protein sowie Prolin-N/Protein-N-Verhältnis im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach Düngung von Fe und Blattapplikation von 2-Aminoethanol	72
Tabelle 3.23:	<i>Versuch C</i> - Mineralelementkonzentrationen (Ca, Mg, P, K, Na, Fe, Mn, Zn) im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach N- und P-Düngung im Freiland mit P-Überschuss im Boden.....	75
Tabelle 3.24:	<i>Versuch C</i> - Mineralelementkonzentrationen (Ca, Mg, P, K, Na, Fe, Mn, Zn) im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach Fe-Düngung und nach Blattapplikation von 2-Aminoethanol (2-AE) im Freiland mit P-Überschuss im Boden.....	76
Tabelle 3.25:	<i>Versuch C</i> - Ausgewählte Elementverhältnisse im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach stressbeeinflussenden Maßnahmen bei P-Exzess im Boden	77

Tabelle 3.26:	<i>Versuch C</i> – Sprosstrockenmasse von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> bei P-Überschuss im Boden nach Düngung von N, P, Fe-Chelat und Blattapplikation von 2-Aminoethanol.....	78
Tabelle 3.27:	<i>Versuch C</i> – Konzentration an freiem Prolin und löslichem Protein sowie Prolin-N/ Protein-N-Verhältnis im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach Düngung von N, P, Fe-Chelat und Blattapplikation von 2-Aminoethanol.....	79
Tabelle 3.28:	Für die Cd-Problematik relevante bodenchemische Parameter von <i>Gefäßversuch B</i> und <i>Versuch C</i>	81
Tabelle 3.29:	Cd-Entzug von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> bei Einsatz stressbeeinflussender Maßnahmen (N, P, Fe-Chelat und 2-Aminoethanol) im <i>Gefäßversuch B</i> (Modellversuch).....	82
Tabelle 3.30:	Veränderung der Cd-Konzentration in Spross und Wurzel von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> durch den Einsatz stressbeeinflussender Maßnahmen (N, P, Fe-Chelat und 2-Aminoethanol) in <i>Gefäßversuch B</i>	83
Tabelle 3.31:	Veränderung der Cd-Konzentration in Spross und Wurzel von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> durch den Einsatz stressbeeinflussender Maßnahmen (N, P, Fe-Chelat und 2-Aminoethanol) in <i>Versuch C</i> (Freiland)	83
Tabelle 4.1:	Eigenschaften von <i>Elymus repens</i> und <i>Arrhenatherum elatius</i> die ihre Verbreitung im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ zu Zeiten unterschiedlicher Bodenbelastung erklären.....	104

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Luftbildaufnahme des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“	2
Abbildung 1.2: Durch die Düngemittelproduktion freigesetzte Elemente	2
Abbildung 1.3: Historische Fotos der Umweltbelastung im Jahr 1979, <i>links</i> abgestorbene Bäume, <i>rechts</i> Staubablagerung in unmittelbarer Werksnähe	3
Abbildung 1.4: Phosphatformen und ihre Verknüpfung mit der Bodenlösung	5
Abbildung 1.5: Die pflanzliche Stressantwort	7
Abbildung 1.6: Bildung reaktiver Sauerstoffspezies und Lokalisation der Superoxid-Dismutasen in der Pflanzenzelle	8
Abbildung 1.7: Cadmiumverteilung in höheren Pflanzen	11
Abbildung 1.8: Prolinsynthese, Prolinoxidation durch Hydroxylradikale und Glycinbetain-Synthese	13
Abbildung 2.1: Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ - Schnitt durch die drei Hangabschnitte entlang des untersuchten Transektes (Maßstab 1:1000)	16
Abbildung 2.2: Versuchsaufbau des <i>Versuches C</i> am Standort „Steudnitz“ - <i>linkes Foto</i> zu Beginn des Versuches, <i>rechtes Foto</i> nach 10 Wochen	25
Abbildung 2.3: Parameter der Chlorophyll a-Fluoreszenz	27
Abbildung 3.1: Einteilung der beprobten Flächen im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ und der Referenzstelle in vier Gruppen unterschiedlicher Belastung (Cluster) mittels Clusteranalyse auf der Grundlage von bodenchemischen Parametern mit hohem Erklärungswert	35
Abbildung 3.2: Boden-pH-Werte im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ entlang des Transektes im Vergleich zur unbelasteten Referenzstelle gemittelt aus Okt. 2003 und Apr. 2004 (je n=6)	37
Abbildung 3.3: Gesamtphosphor und pflanzenverfügbarer Phosphor (<i>Olsen P</i>) entlang des Transektes im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ (Tiefe 0-100 mm)	38
Abbildung 3.4: Pflanzenverfügbarer Stickstoff (N_{min}) entlang des Transektes im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ im Vergleich zur unbelasteten Referenzstelle gemittelt aus Okt. 2003 und Apr. 2004 (je n=6)	39
Abbildung 3.5: Konzentrationsgradient entlang des Transektes für die Elemente Ca, Na, P und Cd mit zunehmender Entfernung vom Emittenten	40
Abbildung 3.6: Konzentrationsgradient entlang des Transektes für die Elemente Al, Fe, Mg und Mn mit zunehmender Entfernung vom Emittenten	41
Abbildung 3.7: <i>Gefäßversuch A</i> – <i>Arrhenatherum elatius</i> Fotos <i>oben</i> , <i>Elymus repens</i> Fotos <i>Mitte</i> und <i>Avena sativa</i> Fotos <i>unten</i> mit unterschiedlicher Phosphordüngung unter Abwesenheit (-) und mit 6500 mg $CaCO_3\ kg^{-1}$ BoTM (+)	44

Abbildung 3.8: Gefäßversuch A – Spross- und Wurzeltrockenmassen von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> pro Gefäß (1 dm ²) bei 25, 50, 100, 140, 250, und 1000 mg P kg ⁻¹ BoTM ohne und mit CaCO ₃ -Zusatz	50
Abbildung 3.9: Gefäßversuch A – effektive (eQAB) und maximale Quantenausbeute (mQAB) von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> bei unterschiedlicher Phosphordüngung ohne CaCO ₃ (-) und mit 6500 mg CaCO ₃ (+).....	52
Abbildung 3.10: Gefäßversuch A - Sprossgehalte von freiem Prolin in <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> bei steigendem Boden-P-Gehalt: oben ohne CaCO ₃ , unten mit 6500 mg CaCO ₃ kg ⁻¹ BoTM.....	54
Abbildung 3.11: Gelelektrophoretische Auftrennung (Native-PAGE, 10 %) der Superoxid-Dismutasen a) Vergleich von <i>Arrhenatherum elatius</i> , <i>Elymus repens</i> und <i>Avena sativa</i> (aufgetragene Proteinmenge: je 40 µg Phosphat-Puffer lösliches Wurzelprotein) und b) <i>Elymus repens</i> Spross und Wurzel (50 µg Phosphat-Puffer lösliches Spross- bzw. Wurzelprotein).....	57
Abbildung 3.12: Hemmbarkeit der SOD-Isoenzyme durch 2 mM KCN am Beispiel von <i>Elymus repens</i> (aufgetragene Proteinmenge 70 µg Phosphat-Puffer lösliches Wurzelprotein) nach gelelektrophoretischer Auftrennung (Native-PAGE, 10 %).....	58
Abbildung 3.13: Densitometrische Auswertung der SOD-Isoenzymaktivität in Wurzelgewebe von <i>Elymus repens</i>	58
Abbildung 3.14: Gefäßversuch A – Auswirkungen unterschiedlicher Boden-P-Gehalte auf die SOD-Aktivität (densitometrische Auswertung) im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> , <i>Elymus repens</i> und <i>Avena sativa</i> unter Abwesenheit und mit CaCO ₃	59
Abbildung 3.15: Gefäßversuch A – Boden-pH-Werte in Gefäßen bewachsen mit <i>Arrhenatherum elatius</i> , <i>Elymus repens</i> und <i>Avena sativa</i> bei steigendem Boden-P-Gehalt: links ohne CaCO ₃ , rechts mit 6500 mg CaCO ₃ kg ⁻¹ BoTM.....	60
Abbildung 3.16: Gefäßversuch B Teil 1 – Auswirkung der N- und P-Düngung (200 mg N bzw. 140 mg P kg ⁻¹ BoTM) auf die Produktivität von <i>Arrhenatherum elatius</i> (rechts), <i>Elymus repens</i> (Mitte) und <i>Avena sativa</i> (links) bei P-Exzess im Boden, die Kontrollen (Ko.) blieben ungedüngt.....	62
Abbildung 3.17: Gefäßversuch B Teil 1 - SOD-Isoenzym-Aktivitäten (densitometrische Auswertung) im Spross von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach Erhöhung des verfügbaren N- und P-Gehaltes im Boden (200 mg N bzw. 140 mg P kg ⁻¹ BoTM), die Kontrollen blieben unbehandelt.....	68
Abbildung 3.18: Gefäßversuch B Teil 2 – Auswirkung einer Fe-Chelat-Düngung (2,4 mg Fe kg ⁻¹ BoTM) und einer 2-Aminoethanol-Applikation (4 mg 2AE dm ⁻² als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht) auf das Wachstum von <i>Arrhenatherum elatius</i> (rechts), <i>Elymus repens</i> (Mitte) und <i>Avena sativa</i> (links) bei P-Überschuss im Boden, die Kontrollen (Ko.) blieben unbehandelt.....	69
Abbildung 3.19: Gefäßversuch B Teil 2 - SOD-Isoenzym-Aktivitäten (densitometrische Auswertung) in Spross und Wurzel von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach Applikation von Fe als Chelat und 2-Aminoethanol (2,4 mg Fe kg ⁻¹ BoTM gedüngt	

und 4 mg 2AE dm ⁻² als wässrige 10 mM Lösung aufgesprüht), die Kontrollen (Ko.) waren unbehandelt.....	73
Abbildung 3.20: Versuch C – Foto der Versuchsfläche am Standort „Steudnitz“	74
Abbildung 3.21: Versuch C – SOD-Isoenzym-Aktivitäten (densitometrische Auswertung) in Spross und Wurzel von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach Erhöhung verfügbaren N und P bei P-Exzess im Boden (pro m ⁻² Fläche: 7,0 g N, 4,9 g P, die Kontrollen blieben ungedüngt).....	80
Abbildung 3.22: Versuch C – SOD-Isoenzym-Aktivitäten (densitometrische Auswertung) in Spross und Wurzel von <i>Arrhenatherum elatius</i> und <i>Elymus repens</i> nach Düngung des Mikronährstoffes Fe als Chelat (0,084 g Fe m ⁻²) und Aufsprühen des Stresstoleranzaktivators 2-Aminoethanol (0,4 g 2AE m ⁻² als wässrige 10 mM Lösung gesprüht im Zweiblattstadium, die Kontrollen blieben unbehandelt).....	81
Abbildung 4.1: Übersicht pflanzlicher Stressreaktionen bei P-Mangel und bei P-Überschuss.....	90

Verwendete Abkürzungen

2AE	2-Aminoethanol
<i>A.e.</i>	<i>Arrhenatherum elatius</i>
<i>A.s.</i>	<i>Avena sativa</i>
AAS	Atom-Absorptions-Spektroskopie
BoTM	Bodentrockenmasse
BVB	Boden des <i>Gefäßversuches B</i>
BVC	Boden des <i>Versuches C</i> aus dem Freiland
CAL	Ca-Acetat-Laktat-Auszug
DL	Doppellaktat-Auszug
DMSP	Dimethylsulfonylpropionat
DNA	Desoxyribonucleic Acid = Desoxyribonukleinsäure
<i>E.r.</i>	<i>Elymus repens</i>
GPS	Global Position System
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectroscopy
Max. WHK	Maximale Wasserhaltekapazität
MW	Mittelwert
Native	Nichtdenaturierend
NBT	Nitroblautetrazoliumchlorid
N _{min}	pflanzenverfügbare Stickstoff (N)
<i>Olsen P</i>	pflanzenverfügbare Phosphor (P)
PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
PfTM	Pflanzentrockenmasse
PS II	Photosystem II
RfPo	Referenzstelle in Porstendorf
ROS	Reactive Oxygen Species = Reaktive Sauerstoffspezies
SD	Standardabweichung
SDS	Sodium-Dodecyl-Sulfate
SOD	Superoxid-Dismutasen
TM	Trockenmasse
Tris	Tris-(Hydroxymethyl)-Aminoethan
VDLUFA	Verband deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten

Wissenschaftliche und deutsche Bezeichnung aufgeführter Pflanzenspezies

<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) J. & C. Presl	Glatthafer
<i>Avena sativa</i> L.	Hafer, Saathafer
<i>Cicer arietinum</i> L.	Kichererbse
<i>Elymus repens</i> (L.) Gould	Quecke (Synonyme: <i>Agropyron repens</i> (L.) P. Beauv., <i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski und <i>Triticum repens</i> L.)
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	Soja
<i>Gossypium hirsutum</i> L.	Baumwolle
<i>Hordeum vulgare</i> L.	Gerste
<i>Malus domestica</i> Borkh.	Apfel
<i>Oryza sativa</i> L.	Reis
<i>Puccinellia distans</i> (Jacq.) Parl.	Salzschwaden
<i>Secale cereale</i> L.	Roggen
<i>Triticum aestivum</i> L.	Weizen
<i>Vicia hirsuta</i> (L.) S. F. Gray	Wicke
<i>Zea mays</i> L.	Mais

1. Einleitung und Zielstellung

Aus vielen ökologischen Beobachtungen und Untersuchungen geht hervor, dass Naturkatastrophen oder Eingriffe des Menschen Ökosystemstrukturen und –faktoren völlig verändern (Schaller *et al.*, 1987; Yates *et al.*, 2000; Schönbuchner, 2002; Weiher *et al.*, 2004). Ein Ergebnis starker Störungen ist z.B. die völlige Vernichtung bestehender Pflanzengesellschaften und drastische Veränderungen der Mikroorganismengemeinschaft gestörter Geosubstrate. Interessanterweise wird nach dem Ende eines Störungsereignisses oft eine schnelle Besiedelung von Pflanzen festgestellt und es zeichnet sich ein ständiger Wechsel der bestandsbildenden Pflanzenarten ab (Weiher *et al.*, 1999). Weltweit suchen Forschergruppen nach Regeln und Mechanismen von geo-biochemischen Interaktionen gestörter Ökosysteme, zumeist gekoppelt mit dem Ziel, das gestörte Ökosystem zu sanieren, zu rekultivieren und für eine nachhaltigere Nutzung wiederherzustellen (Yates & Hobbs, 1997; McIntyre & Hobbs, 1999; Orłowska *et al.*, 2002; Schönbuchner, 2002; Weiher, 2003; Blanke *et al.*, 2007). Solch ein gestörtes geo-pedochemisch-belastetes Gebiet stand für wissenschaftliche Untersuchungen in Steudnitz bei Jena (Thüringen) zur Verfügung. Eine langjährige interdisziplinäre Forschung zur Funktions- und Regenerationsanalyse etablierte sich hier, die schließlich zur Einrichtung eines Graduiertenkollegs führte. Als Teil dieses Graduiertenkollegs befasst sich die vorliegende Arbeit mit Bio-Geo-Interaktionen, speziell mit pflanzlichen Stressreaktionen auf die geo-pedochemische Belastung, insbesondere die Phosphat- und Cd-Anreicherung im Boden, und Möglichkeiten zur Beeinflussung dieser Stressreaktionen.

Mit ihren umfangreichen Untersuchungen zum Stressverhalten von Pflanzen in Kombination mit hohen Phosphatgehalten im Boden stellt die vorliegende Arbeit eine Besonderheit auf dem Gebiet der Stressforschung dar. Das wissenschaftliche Interesse galt bisher fast ausschließlich den Zusammenhängen zwischen Phosphatmangelernährung und pflanzlicher Stressreaktion (Marschner, 2003; Römer, 2006; Claassen, 2007; Merbach, 2007). Sprach man in der Vergangenheit von „Phosphatstress“ bei Pflanzen war fast immer „Phosphatmangelstress“ gemeint. Der bisherige Wissensstand pflanzlicher Stressforschung bei Phosphatüberschuss im Boden beschränkte sich auf wenige Aussagen überwiegend aus älteren Quellen zu Toxizitätsgrenze (Bergmann, 1992; Marschner, 2003), äußerer Erscheinung (Bergmann, 1992; Zorn *et al.*, 2007) und Elementaufnahme (Loneragan *et al.*, 1979; Cakmak & Marschner, 1986; Neilsen *et al.*, 1992) der Pflanzen (für mehr siehe Kapitel 1.3.3) und war bei den Versuchen Veränderungen und Abläufe einer Pflanzengemeinschaft in einem u.a. mit Phosphatüberschuss belastetem Ökosystem zu erklären völlig unzureichend. Daraus ergab sich für die vorliegende Arbeit die zwingende Notwendigkeit das bekannte Wissen vor allem auch unter zu Hilfenahme modernster Stressindikationsmethoden, um ein Vielfaches zu erweitern.

1.1. Charakterisierung des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“

Das Untersuchungsgebiet westlich der Ortschaft Steudnitz befindet sich in Thüringen im mittleren Saaletal zwischen den Städten Jena und Camburg an ostexponierter Hanglage (Abbildung 1.1).

Aufgrund der großen Vorkommen von Kalkstein in diesem Gebiet entstand schon vor über 100 Jahren eine Fabrik zur Herstellung von Zement. Danach folgte ab 1957 die Produktion von Phosphat-

düngemittel und ab 1970 wurde auf die Produktion von Mg-P-K-Dünger umgestellt. Als Ausgangsrohstoffe für die Düngerproduktion wurden Kola-Apatit und Marokko-Phosphat verwendet, sowie Soda (Na_2CO_3) als Beimengung für den Glühaufschluss eingesetzt.



Abbildung 1.1: Luftbildaufnahme des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“

Aufgrund fehlender Filter und Sicherheitsmaßnahmen kam es über kontinuierliche Emissionen (Schornstein) und diskontinuierliche Emissionen (Transport, Be- und Entladen, Förderband und Lagerflächen) zu erheblichen Staubbelastungen (35 g m^{-2} in 30 Tagen) in der Umgebung des Werkes (Abbildung 1.2, Abbildung 1.3). Die Emissionen bestanden dabei vorwiegend aus mit Na-, Ca-, Mg-, P-, K- und F-Verbindungen angereicherten Stäuben. Es wurden aber auch weitere Halogenide wie Chloride, Sulfide einschließlich (SO_2) und Schwefelsäure emittiert. Letztlich wurden auch kleinere Mengen anderer Elemente, die Bestandteile der Ausgangsrohstoffe waren wie z.B. Cd und U, ausgetragen. Die Richtung der Emissionen wurde durch die Hauptwindrichtung Süd-Südwest bestimmt und führte zu einer Anreicherung der Stäube in nördlicher Richtung, insbesondere am nahe gelegenen Berghang (Heinrich, 1984; Metzner *et al.*, 1997). Nach über 30 Jahren wurde die Düngerproduktion 1990 eingestellt. Ein modernes Zementwerk nutzt seither wieder die reichen Kalksteinvorkommen des Standortes.

Na, Ca, Mg, **P**, K, F, Cl, **Cd**, U, ...

Abbildung 1.2: Durch die Düngemittelproduktion freigesetzte Elemente

Für die nachfolgenden wissenschaftlichen Arbeiten ist weiterhin von Bedeutung, dass sich das belastete Gebiet einerseits in die überwiegend landwirtschaftlich genutzte Saaleaue (130 m NN) mit teilweise mächtigen Auelehmen und Böden vom Typ Salm-Vega und andererseits in die linkssaalischen Hanglagen (220-270 m NN) unterteilt, wo Unterer Muschelkalk ansteht und Rendzina-

böden charakteristisch sind. Zur Saale führende kleine Erosionstäler gliedern das Gelände, wobei flachere Hangpartien von mächtigen Lössauflagerungen (1-2 m; Löß- bzw. Berglehm-Rendzina; Berglehm-Braunerde) überdeckt sind. Die klimatische Situation bezogen auf die Klimastation Jena wird mit Mittelwerten von 9,3 °C und 586 mm Niederschlag für den Zeitraum 1961-1990 angegeben (Heinrich *et al.*, 2001).

Die ersten wissenschaftlichen Untersuchungen für das belastete Gebiet von 1979 zeigten die deutlichen Staubablagerungen (Abbildung 1.3), einen starken Anstieg des pH-Wertes im Boden auf über 9,0 (Umland normal 7,0-7,5) und eine Anreicherung der emittierten Elemente im Oberboden (z.B. >6500 mg Na und >4000 mg P kg⁻¹ BoTM) in der Nähe des Werkes. Diese gravierenden Veränderungen der bodenchemischen und bodenphysikalischen Faktoren wirkten sich direkt auf die dort vorkommende Vegetation aus. Bäume starben durch die Belastung ab (Abbildung 1.3) und Gräser, wie *Puccinellia distans* (= Salzschwaden) oder *Elymus repens* (= Quecke) gewannen an Dominanz zu Lasten des zuvor vorherrschenden *Dauco-Arrhenatheretums* (Heinrich, 1984).



Abbildung 1.3: Historische Fotos der Umweltbelastung im Jahr 1979, *links* abgestorbene Bäume, *rechts* Staubablagerung in unmittelbarer Werksnähe

Spätere Bodenuntersuchungen nach Schließung des Werkes 1990 in Metzner *et al.* (1997) zusammengefasst, zeigten deutlich einen Rückgang der pH-Werte und der Na-Gehalte mit Ausbleiben der Emissionen. Die Verfügbarkeit von P und die Bedeutung des Cd konnten jedoch bisher nicht befriedigend für das Immissionsgebiet geklärt werden. Friedrich (2002) erkennt erstmals im N einen weiteren wichtigen Bodenparameter am Standort und fordert mit Blick auf den „ausreichenden“ Gesamt-N-Gehalt im Boden bei gleichzeitig niedrigem N-Gehalt der Pflanzen die Bestimmung des bioverfügbaren N im Boden.

Neben den Bodenuntersuchen warfen auch die Pflanzenbeobachtungen 10 Jahre nach Schließung des Werkes neue Fragen auf. So verschwand *Puccinellia distans* innerhalb kürzester Zeit und es konnte eine Rückkehr von *Arrhenatherum elatius* (= Glatthafer) in die von *Elymus repens* beherrschten Flächen beobachtet werden (Heinrich *et al.*, 2001). Während das fakultativ halophile *Puccinellia distans* offensichtlich an den Na-Gehalt des Bodens gekoppelt war, wurde über die Populationsdynamik von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* bisher nur unbefriedigend spekuliert. Untersuchungen zum Stressverhalten von Pflanzen bei extrem hohen P-Gehalten im Boden

mit Konsequenzen für die Populationsdynamik (Konkurrenz) sind aus der Literatur, wie weiter oben im Kapitel schon hinreichend beschrieben, nicht bekannt und sind auch im Hinblick auf Sanierungs- und Remediationsstrategien zu erforschen.

1.2. Phosphor (P) als Phosphat im System Boden-Pflanze

Phosphor gehört zu den essentiellen Nährelementen aller Organismen. Sein Bodengehalt schwankt im Normalfall zwischen 200-800 mg kg⁻¹ BoTM. Als Dünger ist P für die Pflanzen-, Tier- und Humanernährung ein zentraler Faktor und kann richtig eingesetzt in der Landwirtschaft die Erträge von Pflanzen steigern (Craft *et al.*, 1995; Böhner & Sobotik, 2000; Chiera *et al.*, 2002; Scheffer & Schachtschabel, 2002). Da in den zurückliegenden Jahrzehnten in Deutschland und anderen entwickelten Ländern leider nur der Ertrag die Zielgröße der Landwirtschaft war, wurde die landwirtschaftliche Nutzfläche zuviel und zu stark gedüngt (1979/1980 32 kg P ha⁻¹). Eine Anreicherung von P in vielen Böden der Industrieländer war die Folge. Durch gestiegenes Kosten- und Umweltbewusstsein wurde vielerorts bis heute anhaltend auf eine angepasste bedarfsorientierte Düngung umgestellt. Dafür wird der vorhandene pflanzenverfügbare P im Boden ermittelt und nur der P-Entzug durch die Pflanzenbiomasse über Düngung ausgeglichen (1999/2000 10 kg P ha⁻¹). Für die Bestimmung des pflanzenverfügbaren P wird die Extraktionsleistung der Pflanzenwurzel mit Anionenaustauscherharzen oder Extraktionsmitteln wie Ca-Acetat-Laktat (CAL) oder NaHCO₃ (*Olsen P*) simuliert (Olsen *et al.*, 1954; Schachtschabel, 1973; Baumgarten, 2000; Scheffer & Schachtschabel, 2002). Den Ausschlag für die richtige Extraktionsmethode geben bei freier Auswahl der Methode allein die Bodenbedingungen (Zorn & Krause, 1999). Da auf CaCO₃-reichen Böden die NaHCO₃-Methode gute Ergebnisse erzielte (Delgado & Torrent, 1997) und die vorliegende Arbeit den objektiven Ansatz verfolgt, wurde der pflanzenverfügbare P in dieser Arbeit als *Olsen P* und nicht mit der CAL-Methode als Standardmethode deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (LUFA) bestimmt.

Im Boden liegt P zum größten Teil gebunden in nichtpflanzenverfügbarer Form vor. Er findet sich in anorganischen Salzen, spezifisch an Oberflächen, in organischen Verbindungen oder in Bodenorganismen, und ist in allen Formen über die Bodenlösung durch spezifische Prozesse miteinander verbunden (Abbildung 1.4). Im Wesentlichen kommt P im Boden als Orthophosphat-Anion (PO₄³⁻) vor. Das Phosphat-Anion hat einen stark nukleophilen Charakter, aus dem sich seine hohe Affinität zu stark elektrophilen Kationen, wie Al³⁺ und Fe³⁺, aber auch anderen Kationen wie Ca²⁺ ergibt. Mit diesen Kationen geht P oft schwerlösliche Verbindungen im Boden ein. Der pflanzenverfügbare P-Anteil in der Bodenlösung macht deshalb meist nur 0,1 % des Gesamt-P aus (Scheffer & Schachtschabel, 2002).

Die Pflanzen haben abhängig von Genetik und Bodenchemie mehrere auch parallele Strategien entwickelt, um im Boden festgelegten P bei Bedarf verfügbar zu machen. Eine Strategie ist, dass Pflanzen über die Wurzeln eine Symbiose mit im Boden lebenden Mykorrhiza-Pilzen eingehen. Die Pflanzen liefern dem Pilz Nahrung in Form von organischem Kohlenstoff und erhalten im Gegenzug u.a. gelösten P. Dabei vergrößern die Pflanzen noch zusätzlich über das weite Pilzgeflecht das

Einzugsgebiet ihrer Wurzeln (Jungk & Claassen, 1989; Treseder & Allen, 2002; Marschner *et al.*, 2005).

Eine andere wichtige Strategie der Pflanzen besteht darin, dass sie selbst aktiv im Boden gebundenen P freisetzen. Dafür scheiden sie Ektoenzyme (Phosphatasen), Protonen (H^+) und organische Säuren (z.B. Zitronen- oder Äpfelsäure) in den wurzelnahen Raum (Rhizosphäre) aus. Während die Phosphatasen den P aus Phytat freisetzen, senkt die Ausschüttung von Protonen den pH-Wert in der Bodenlösung, wodurch die Löslichkeit gebundenen P ansteigt. Die organischen Säuren wirken aber außerdem über ihre Anionenkomponente, indem sie P aus z.B. Huminstoff-Al-Komplexen oder Fe/Al-Oxiden freisetzen. Die Pflanze selbst entfaltet über Transportmechanismen ferner eine differenzierte P-Aufnahme. So kann sie über die Aktivität der P-Transporterproteine in der Zellmembran die P-Aufnahme erhöhen oder vermindern (Jungk & Claassen, 1986; Marschner *et al.*, 1986; Römer, 2006). Daraus folgt beispielsweise, dass der Pflanzen-P-Gehalt nicht linear dem mobilen P-Gehalt des Bodens folgt.

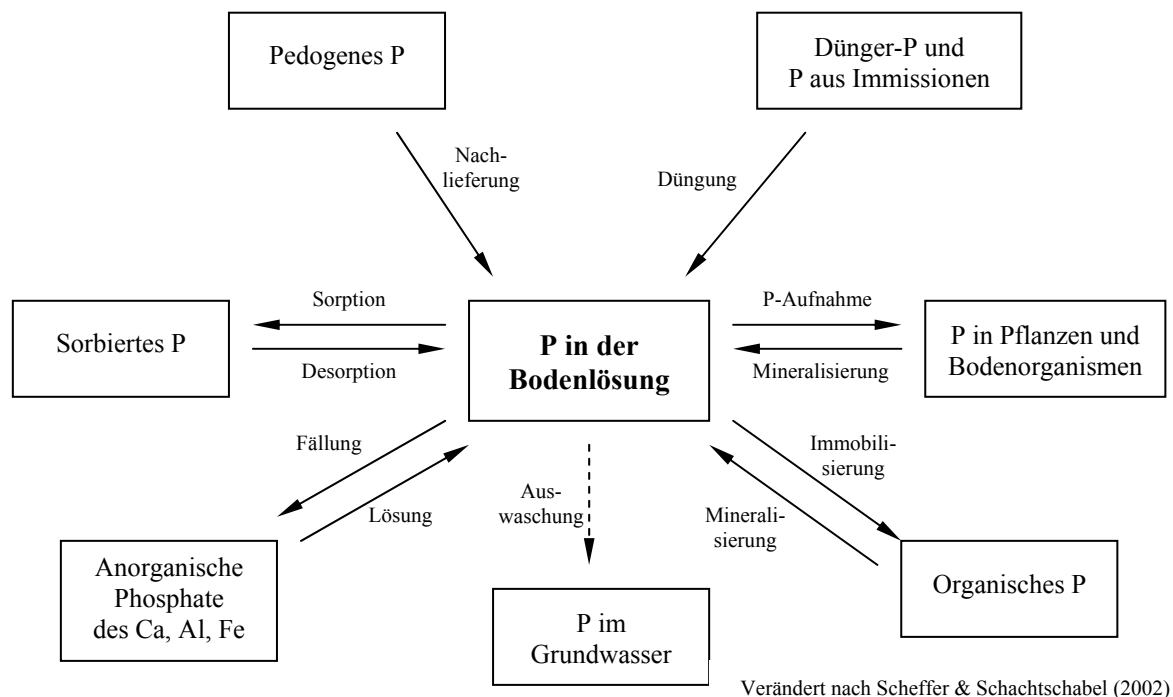


Abbildung 1.4: Phosphatformen und ihre Verknüpfung mit der Bodenlösung

Neben den beiden bekannteren Strategien der Pflanzen gibt es noch eine weitere weniger erforschte Beziehung der Pflanzen mit Bakterien P in der Rhizosphäre verfügbar zu machen. Die Steuerung erfolgt dabei über Exsudate der Pflanze (Marschner, 2003; Marschner *et al.*, 2005). Alle Strategien haben trotz ihrer Unterschiede eines gemeinsam. Sie verbrauchen Energie der Pflanzen. Die Kosten z.B. für die Versorgung der Mykorrhiza oder für die Gesamtbilanz der Exsudate können bis auf 20 % der Netto-Photosyntheserate ansteigen (Marschner, 2003).

Die Aufnahme von P in die Pflanze erfolgt bei physiologischen pH-Werten im Boden meist als $H_2PO_4^-$ gekoppelt mit H^+ -ATPase (Raghothama, 1999). In den Zellen kommt er als anorganisches

Phosphat in Vakuolen, verestert an einzelnen Zuckermolekülen oder Kohlenstoffketten, in energiereichen Pyrophosphaten oder in Makromolekülen der Ribonukleinsäuren und Membranphospholipide gebunden vor (Marschner, 2003). Im Energiestoffwechsel kommt P eine zentrale Rolle zu. Einerseits reguliert P metabolische Prozesse wie die Stärkesynthese in den Chloroplasten über P-abhängige Transporter energiereicher P-Verbindungen („P-Translokatoren“) oder über das Enzym ADP-Glucose-Pyrophosphorylase (Heldt *et al.*, 1977; Heldt *et al.*, 1991; Walker, 1997; Flügge, 1999) sowie die Glykolyse über das Enzym Phosphofruktokinase (Heldt *et al.*, 1977; Woodrow & Rowan, 1979). Andererseits speichert P Energie kurzfristig in energiereichen Pyrophosphaten wie ATP mit hohem Turnover oder langfristig in Polyphosphaten und Phytat. Phytat ist die typische Speicherform des P in Samen und besteht aus dem ringförmigen Alkohol Myoinositol an dem sich bis zu sechs Phosphat-Moleküle anlagern können. An den Phosphatmolekülen werden dann für die Pflanze notwendige Kationen (z.B.: K, Mg, Ca, Zn), aber auch zur Detoxifikation schädliche Schwermetalle (z.B.: Cd, U) gebunden (Van Steveninck *et al.*, 1987; Ockenden & Lott, 1988; Marschner, 2003).

1.3. Stress bei Pflanzen

Pflanzen finden in den verschiedensten Ökosystemen, ob naturbelassen oder direkt durch den Menschen verändert, nur selten optimale Umweltbedingungen vor. Die Umweltfaktoren wie Wasserversorgung, Nährstoffverfügbarkeit, das Lichtangebot oder die Temperatur können in weiten Bereichen stark schwanken. Larcher (1997) bezeichnete „Stress“ als einen Beanspruchungszustand eines Organismus, der zuerst Destabilisierung, dann Normalisierung und zuletzt Resistenzsteigerung hervorruft. Wird die Anpassungsfähigkeit des Individuums überschritten und somit der Reparaturmechanismus überlastet, führt dies zum Untergang der betroffenen Pflanzenteile oder des gesamten Organismus.

Diese Stressdefinition wurde durch Lichtenthalers „Eu-Stress Konzept“ erweitert, wonach ein moderater Stress (Eu-Stress) den Zellstoffwechsel und dadurch die physiologische Aktivität der gesamten Pflanze erhöhen kann (Lichtenthaler, 1996). Dieser Zustand kann über einen langen Zeitraum andauern, ohne dass es zu schädigenden Effekten am Organismus kommt. Der Eu-Stress wirkt so im Gegensatz zur allgemeinen Stressvorstellung positiv und erhöht den Toleranzbereich der Pflanze gegenüber anderen Stressoren. In Versuchen konnte gezeigt werden, dass z.B. die Chemikalie 2-Aminoethanol (2AE) solch einen Eu-Stress-Effekt in Getreide auslöst, der dann bei Trockenheit einen höheren Ertrag (Bergmann *et al.*, 1998; Bergmann *et al.*, 2002) oder bei Herbizideinsatz das Überleben (Mascher *et al.*, 2005) sicherte.

Ein stressauslösender Umweltparameter wird allgemein als Stressor bezeichnet. Dieser Stressor wirkt unter natürlichen Bedingungen nie isoliert, sondern beeinflusst die Pflanze als Summe verschiedener Faktoren. Ziel der Pflanze ist es, durch spezifische Reaktionen ihr Überleben zu sichern, was sich außerhalb bestimmter Grenzen auf das Wachstum, den Ertrag und die Inhaltsstoffe auswirkt (Abbildung 1.5). In den Stressreaktionen der Pflanzen werden die Stressoren unterschieden in 1. Physikalische Stressoren: Licht, Strahlung, Temperatur, Wind und Feuer, 2. Chemische Stressoren: Wasserverfügbarkeit, Nährstoffangebot, Boden-pH-Wert, Salinität, Luftschadstoffe, Xenobiotika und

Schwermetalle sowie 3. Biotische Stressoren: Konkurrenz, Herbivorie, Mahd und Pathogenbefall (Brunold *et al.*, 1996).

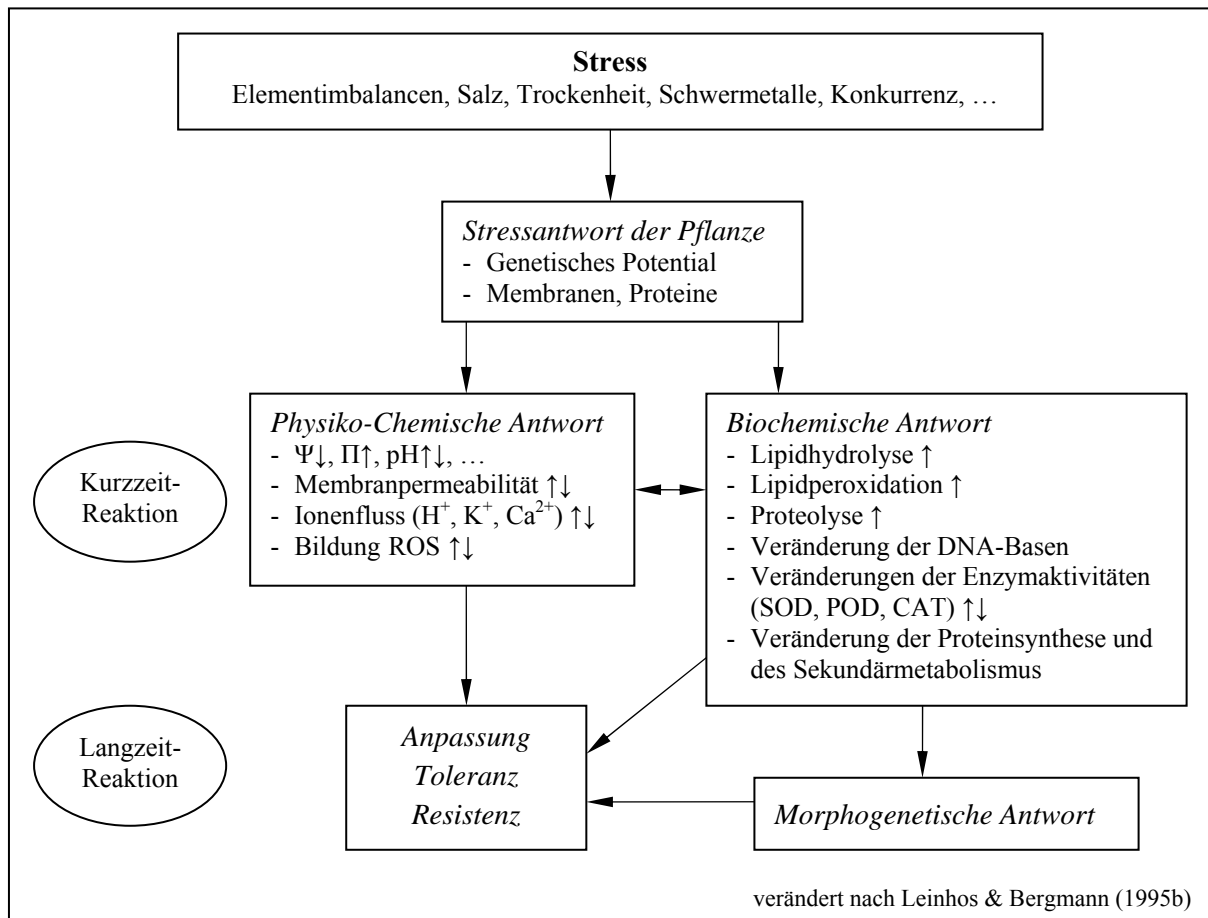


Abbildung 1.5: Die pflanzliche Stressantwort

Gegenwärtig ist die Forschung an Stressreaktionen der Pflanzen stark molekularbiologisch geprägt, um auf der Organisationsstufe von Zellen und Organismen die genetische Kontrolle der Stressresponse zu definieren (Akkapeddi *et al.*, 1999; Alscher *et al.*, 2002; Palatnik *et al.*, 2002; Mascher *et al.*, 2005). Gleichzeitig werden Stressreaktionen aber auch auf physiologisch-biochemischer Ebene betrachtet (Bergmann *et al.*, 1999; Bergmann *et al.*, 2001; Bergmann *et al.*, 2002; Friedrich, 2002), was wichtig ist für die Ableitung von Stress-, Toleranz- und Adaptationszuständen. Für die komplexen Fragestellungen zur Stresswirkung in dieser Arbeit wurden molekularbiologische (z.B. Superoxid-Dismutasen) und physiologisch-biochemische Untersuchungen (z.B. freies Prolin) durchgeführt.

Mit dem Verstehen der Stressreaktion sollten sich wichtige Erkenntnisse über Pflanzenwachstum an Extremstandorten gewinnen lassen, die letztlich auch Konsequenzen für Sanierungs- und Phytoremediationsstrategien haben.

1.3.1. Oxidativer Stress – reaktive Sauerstoffspezies, Sauerstoffaktivierung und Superoxid-Dismutasen

Durch eine Vielzahl von Arbeiten in den vergangenen Jahren wurde gezeigt, dass nahezu alle Stressoren den Redoxzustand innerhalb einer Pflanzenzelle beeinflussen können. Dies äußert sich in einer oxidativen Umsteuerungen des Metabolismus (Elstner, 1996; Dat *et al.*, 2000; Mascher *et al.*, 2005). Dabei werden reaktive Sauerstoffspezies (ROS = Reactive Oxygen Species, Abbildung 1.6) gebildet von denen vor allem Hydroxylradikale äußerst aggressiv reagieren können (Fridovich, 1989).

Zu den ROS gehören Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2$), Superoxidradikale ($\text{O}_2^{\cdot-}$), Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Hydroxylradikale (OH^{\cdot}). Viele dieser Verbindungen entstehen nicht nur bei Stress, sondern sind Bestandteil des pflanzlichen Stoffwechsels (Alscher *et al.*, 2002). Eine wichtige Quelle von ROS sind die Elektronentransportsysteme wie sie in Mitochondrien, Chloroplasten und Plasmamembranen vorkommen (Alscher *et al.*, 1997). ROS werden aber auch in Mikrosomen, in Peroxisomen, in Glyoxisomen, im Zytosol und möglicherweise im Zellkern gebildet (Alscher *et al.*, 2002). Um sich vor der Selbstvergiftung zu schützen, ist es von grundlegender Bedeutung für das Überleben der Pflanzen Schutzsysteme gegen ROS zu besitzen.

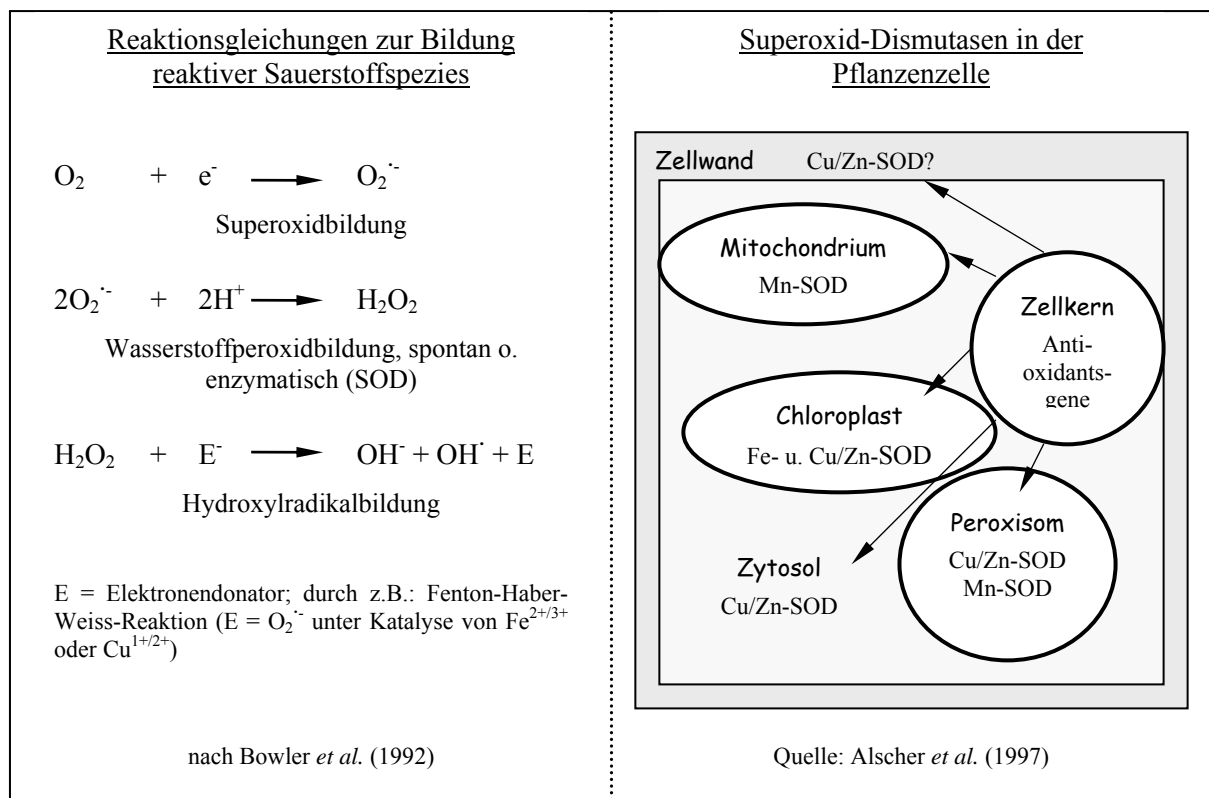


Abbildung 1.6: Bildung reaktiver Sauerstoffspezies und Lokalisation der Superoxid-Dismutasen in der Pflanzenzelle

Superoxidradikale entstehen durch Einelektronenoxidation von H_2O_2 oder durch Einelektronenreduktion von O_2 (Abbildung 1.6). Die am besten untersuchte Quelle von $\text{O}_2^{\cdot-}$ in Pflanzen ist die für die Energiegewinnung bedeutende reduzierende Seite des Photosystems I (PS I). Das aus der

Oxidation von Wasser Elektronen gewinnende Photosystem II (PS II) transportiert die Elektronen über mehrere Carrier zum Reaktionszentrum des PS I, wo die Bildung von $O_2^{\cdot -}$ durch Autoxidation an den Elektronenakzeptoren der Thylakoidmembranen sowie durch die Reduktion des peripheren Ferredoxins erfolgt (Asada *et al.*, 1974). Unter normalen Bedingungen werden ca. 96 % des gebildeten $O_2^{\cdot -}$ spontan durch Dismutation an den Thylakoidmembranen zu O_2 reoxidiert, nur 4 % gelangen durch diese hindurch in das Stroma. Dabei kann der Gehalt an $O_2^{\cdot -}$ bei nicht Entgiftung durch die Superoxid-Dismutasen (SOD) für die Enzyme des Stroma letal sein (Karpinski, 1994).

Eine Inaktivierung der $O_2^{\cdot -}$ ist umso bedeutender, da sie aufgrund ihrer Ladung biologische Membranen nicht passieren können und in der Zelle radikalische Kettenreaktionen auslösen (Fridovich, 1989). Um dies zu verhindern ist es notwendig $O_2^{\cdot -}$ schon innerhalb der subzellulären Kompartimente durch antioxidative Schutzsysteme zu entgiften (Abbildung 1.6). Eine besondere Bedeutung wird dem bei der Kettenreaktion entstehenden langlebigen H_2O_2 beigemessen. Zum einen greift es in die Signalübertragung zur Aktivierung von Enzymen durch Änderung des zellulären Redoxzustandes ein. Und zum anderen verändert die Akkumulation von H_2O_2 über Redoxsignalen die Genexpression und so die Stresstoleranz der Zellen (Foyer & Noctor, 2000).

Das Einwirken der nach Stress entstehenden ROS kann in Pflanzen zu einer Vielzahl von antioxidativen Schutzmechanismen führen. Von besonderer Bedeutung sind niedermolekulare antioxidative Verbindungen wie Ascorbat, Carotinoide, α -Tocopherol, Glutathion und Polyaminkonjugate (Bergmann, 1996; Foyer & Noctor, 2000; Matysik *et al.*, 2002) sowie die Schlüsselenzyme des Antioxidantienstoffwechsels mit SOD ($O_2^{\cdot -}$ -Entgiftung) und mit Peroxidasen, Katalasen bzw. Enzyme des Ascorbat-Glutathion-Zyklus (H_2O_2 -Entgiftung) (Dat *et al.*, 2000; Foyer & Noctor, 2000).

Die SOD (EC 1.15.1.1) sind antioxidative Schlüsselenzyme und ubiquitär in aeroben Organismen vorhanden. Typisiert werden sie nach den Metallen ihrer prosthetischen Gruppen in Cu/Zn-, Fe-, Mn- und Ni-SOD (Bowler *et al.*, 1992; Brioukhanov *et al.*, 2000). In Pflanzen konnten verschiedene SOD-Isoformen verschiedenen Zellkompartimenten zugeordnet werden, so enthalten z.B. die Mitochondrien Mn-SOD, das Zytosol Cu/Zn-SOD und die Chloroplasten Fe- und Cu/Zn-SOD (Abbildung 1.6). Die Isoenzyme sind kerncodiert und werden bei Bedarf zu den Organellen bzw. im Zytosol transportiert. Die Anzahl der Isoenzyme eines SOD-Typs variiert zwischen den Spezies und führt zu einem breiten Spektrum an Isoenzymen (Bowler *et al.*, 1992). Nicht alle SOD-Isoenzyme einer Zelle werden von allen Stressoren gleichermaßen aktiviert (Becana *et al.*, 1989; Cakmak *et al.*, 1997). Die Zunahme der SOD-Aktivitäten in Pflanzen konnte beispielsweise durch hohe und niedrige Temperaturen, Ozon, Trockenheit oder hohe Lichtbestrahlung und Paraquat (Herbizid) induziert werden (Casano *et al.*, 1999; Dat *et al.*, 2000; Mascher *et al.*, 2005). Schwermetallstress z.B. durch Cd aktiviert in geringeren Konzentrationen die SOD, hohe Gaben verringern die SOD-Aktivitäten (Dixit *et al.*, 2001)

1.3.2. Stress durch Schwermetalle am Beispiel Cadmium

Unter Schwermetallen versteht man Metalle, die eine Dichte oberhalb von $5,0 \text{ g cm}^{-3}$ aufweisen (Sanità di Toppi & Gabrielli, 1999). Zu ihnen zählen z.B. Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb oder Zn. Diese

Elemente kommen in verschiedenen Organismen nur in sehr geringen Konzentrationen vor und werden deshalb als Spurenelemente bezeichnet (Fiedler & Rösler, 1993).

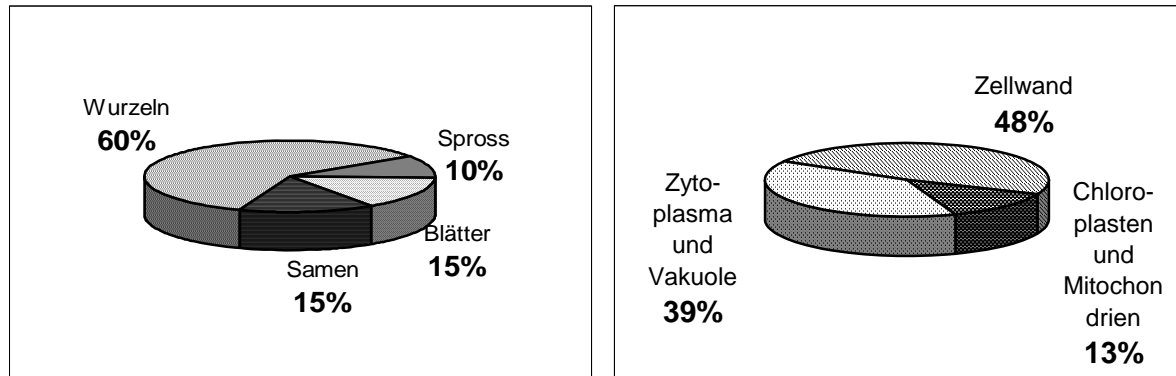
Spurenelemente haben meist als Cofaktoren von Enzymen katalytische Funktionen, deren Wirksamkeit bei einem Mangel des betreffenden Elementes beeinträchtigt wird. Sobald die für ein Individuum genetisch determinierte obere Grenze eines Schwermetalls erreicht ist, werden die biologischen Prozesse eingeschränkt, es treten Intoxikationen auf (Bergmann, 1992). Neben diesen Elementen treten in der Umwelt weitere Schwermetalle in beträchtlichen Konzentrationen auf, deren Essentialität zum Teil noch nicht nachgewiesen werden konnte. Zu diesen anthropogen verursachten Umweltkontaminanten zählt z.B. das Cd mit einer jährlichen globalen Belastung mit $29,19 \cdot 10^3$ t (Sanità di Toppi & Gabrielli, 1999).

Das Schwermetall Cd, chemisch eng mit Zn verwandt, weist in der Regel in Deutschland Gehalte von $<0,5$ mg Cd kg⁻¹ (unbelasteter Boden) auf. Der tatsächliche Bodengehalt liegt besonders durch anthropogene Emissionen weit höher (innerstädtische Böden 0,5-5 mg Cd kg⁻¹). Wichtige Quellen sind Industrieabfälle, Phosphatdünger, Klärschlamm und Kfz-Verkehr, die in ihrer Summe einen durchschnittlichen Anstieg in A-Horizonten der Böden um 0,1 mg Cd kg⁻¹ in 20-40 Jahren bewirken. Im Sinne einer nachhaltigen Entwicklung und um die Bevölkerung in Deutschland vor toxischen Konzentrationen des Cd zu bewahren gibt es in Deutschland Gesetze wie die Klärschlammverordnung, die Richtwerte für Lebensmittel oder die Grenzwerte für Trinkwasser (Scheffer & Schachtschabel, 2002).

Die Pflanzenverfügbarkeit des Cd ist stark von Bodeneigenschaften wie pH-Wert, Humusanteil, Redoxpotential, Gehalt an komplexierenden Liganden sowie Phosphatstatus abhängig (Scheffer & Schachtschabel, 2002). Die Aufnahme in die Pflanze erfolgt über transmembrane Carrier als Cd²⁺-Ion, wobei die Elementaufnahme von Zn kompetitiv gehemmt wird (Hart *et al.*, 1998). Guerinot (2000) beschreibt die Möglichkeit der Cadmiumaufnahme über Transporter der ZIP-Familie (ZRT, IRT-like Protein), welche ZRT (zinc regulated transporter) und IRT (ion regulated transporter) beinhaltet. Der Eintritt in die Pflanze erfolgt über die Rhizodermis oder über das corticale Wurzelgewebe, wonach eine Anreicherung im Xylem bzw. Apoplast erfolgt und/oder über den symplastischen Weg eine Komplexierung durch Verbindungen wie organische Säuren und Phytochelatine stattfindet (Rausser, 1995; Hart *et al.*, 1998; Pence *et al.*, 2000). Durch die Strategie der Cd-Festlegung kommt es einerseits zur Elementanreicherung in der Wurzel durch Cd²⁺/H⁺-Antiportsystem u. Mg-ATP abhängigen Phytochelatine-Cd-Transporter, d.h. nur geringe Cd-Mengen gelangen in den Spross (Abbildung 1.7), andererseits steht nur ein geringer Anteil des Cd in aktiver Form zur Verfügung, um in den Stoffwechsel einzugreifen (Hart *et al.*, 1998). Die Cd-Gehalte innerhalb der Blätter verteilen sich zu 48 % in der Zellwand, 39 % im Zytoplasma und 13 % in den Chloroplasten und Mitochondrien (Abbildung 1.7).

Das Toxizitätsprinzip von Cd beruht auf der Verdrängung von Zn²⁺-Ionen aus zinkhaltigen Enzymen durch den Cd-Überschuss (Das *et al.*, 1997; Ernst, 1997; Merian *et al.*, 2004). Die Pflanzen reagieren auf Cadmiumintoxikation mit Wachstumsinhibierung und Chlorosen. Die Chlorosen sind direkt oder indirekt auf Wechselwirkungen zwischen Cd und Fe oder bei Getreidepflanzen eine Verschiebung des Fe/Zn-Verhältnisses zurückzuführen (Root *et al.*, 1975; Siedlecka & Krupa, 1999). Durch die Cd-Aufnahme in die Mitochondrien tritt eine intramitochondriale Granulabildung ein. Es

kommt zur Schwellung, Vakuolisierung und Degeneration der Mitochondrien (Das *et al.*, 1997). In den Chloroplasten führt Cd zur Verdrängung der Granastruktur, zur Inhibierung der Chlorophyllsynthese, zum Anstieg freier Fettsäuren und zur Zunahme der Plastoglobuli. Die Photosynthese wird in Licht- und Dunkelphase negativ beeinflusst. Dies bedeutet Schädigung am Antennenpigmentsystem des PS II sowie Enzyminhibierung (z.B. Rubisco) in der Dunkelphase der Photosynthese (Siedlecka & Krupa, 1999).



Quelle: Siedlecka & Krupa (1999)

Abbildung 1.7: Cadmiumverteilung in höheren Pflanzen

1.3.3. Stress durch P-Überschuss?

Der P-Gehalt für eine optimale Entwicklung von Pflanzen ist abhängig vom Wachstumsstadium der jeweiligen Spezies und liegt zwischen 3000 und 5000 $\mu\text{g P g}^{-1}$ PFTM. Ab einem Gehalt von 10000 $\mu\text{g g}^{-1}$ PFTM beginnt die toxische Wirkung von P (Marschner, 2003). Über die Auswirkungen von hohen verfügbaren oder toxischen Boden-P-Gehalten auf die Entwicklung und das Stressverhalten von Pflanzen oder speziell Gräsern ist im Gegensatz zum P-Mangel bis heute nur sehr wenig bekannt. Das Wenige, was zu P-Überschuss und pflanzlichem Stressverhalten bisher in der Literatur bekannt ist, soll jetzt im Anschluss aufgeführt werden.

Die Ursache für das wissenschaftliche Desinteresse in der Pflanzenernährung kann wohl darin gesehen werden, dass ein hoher pflanzenverfügbarer P-Gehalt in Böden fast nie vorkommt. Selbst auf landwirtschaftlichen Flächen mit langjähriger Überdüngung steigen die pflanzenverfügbaren P-Gehalte nur sehr langsam an. Der Großteil des P im Boden wird anorganisch oder organisch gebunden und ist für die Pflanzen nicht direkt verfügbar. Ein kleiner P-Anteil wird ausgewaschen (Scheffer & Schachtschabel, 2002). Außerdem konkurrieren Mikroorganismen mit den Pflanzen um den bioverfügbaren P (Marschner *et al.*, 2005).

Bekannt ist, dass es bei einem P-Überangebot im Boden zu P-induziertem Zn-Mangel kommen kann (Marschner, 2003). Hohe P-Gehalte im Boden senken die Zn-Löslichkeit (Marschner & Schropp, 1977; Loneragan *et al.*, 1979). Außerdem bewirkt die übermäßige P-Versorgung oft ein geringeres Wurzelwachstum und eine niedrigere Infektionsrate der Wurzeln mit vesiculärer arbusculärer Mykorrhiza-Pilzen, was zusätzlich die Zn-Aquisition verringert. Zinkmangelsymptome durch P-Übersorgung resultieren meist aus verstärktem Sprosswachstum bei gleichzeitiger Verdünnung des

Zn in der Pflanze (Loneragan *et al.*, 1979; Neilsen & Hogue, 1986), das P/Zn-Verhältnis ist gestört (Loneragan *et al.*, 1979; Cakmak & Marschner, 1986). Zeigt die Pflanzentrockenmasse keine verringerten Zn-Gehalte, kann trotzdem die zellphysiologische Zn-Verfügbarkeit eingeschränkt sein, da P auch die Mobilität und Verfügbarkeit von Zn in der Zelle verringert. Dabei kommt es zu einem Abfall des verfügbaren Zn in Zytoplasma und Zellorganellen gefolgt von einer niedrigeren Cu/Zn-SOD-Aktivität in den Blättern (Cakmak & Marschner, 1987). Darüber hinaus gibt es Hinweise, dass ein P-Überangebot auch einen Mangel an Fe (Marschner *et al.*, 1986) oder Mn (Neilsen *et al.*, 1992) auslösen kann. Ob P-Stress (als P-Überschuss) eine Stressreaktion in Pflanzen hervorruft und welche Prozesse dabei aktiviert oder verändert werden, ist immer noch unklar.

Mit dem Untersuchungsgebiet „Steudnitz“, seinem langjährigen exzessiven P-Eintrag (Kapitel 1.1) und den daraus resultierenden hohen verfügbaren Boden-P-Gehalten (Kapitel 3.1.2.2) wurde die Frage nach den Auswirkungen von P-Überschüssen im Boden auf Pflanzen auch im Sinne eines gestiegenen Umweltbewusstseins und im Blick auf Remediationsvorhaben neu gestellt. Der *Gefäßversuch A* soll im Modellansatz die Stressreaktion an den Gräsern *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und *Avena sativa* finden.

1.3.4. Stressmetabolismus mit Schwerpunkt N-Stoffwechsel und freie Aminosäuren

Die meisten Proteine der Zellen (z.B. Enzyme) unterliegen einem physiologischen Gleichgewicht zwischen Proteinsynthese und -abbau (Proteinturnover). Bei sich ändernden Bedingungen können die Zellen ihren Proteinturnover bezüglich Synthese- und Abbaugeschwindigkeit verändern. Sie passen damit Proteinmenge und –muster den neuen Umweltbedingungen an (Leinhos & Bergmann, 1995a; Leinhos & Bergmann, 1995b). Der stressinduzierte Proteinabbau, der erhöhte Anteil *freier* proteinogener Aminosäuren und die damit gekoppelte Neubildung von Proteinen infolge einer differentiellen Genexpression durch selektive Umsteuerung der Transkription liefert den Zellen eine Enzymausstattung, die besser an die neuen Bedingungen angepasst ist (Larcher, 1987). Die neu synthetisierten Proteine sind besser für den enzymatischen Katabolismus verfügbar und dienen zusätzlich der Stickstoffspeicherung. Durch den erhöhten Anteil *freier* proteinogener Aminosäuren kann es zudem zu einer verstärkten Decarboxilierung dieser und damit zur Mono-, Di- und Polyaminsynthese kommen (Bergmann, 1996).

Die Gehalte der *freien* Aminosäuren reagieren schnell und empfindlich auf Stressoren, wodurch sie besonders geeignet sind, stoffwechselphysiologische Belastungen von Pflanzen anzuzeigen (Klein *et al.*, 1981; Grünhage & Jäger, 1982). Die Vergrößerung des Pools (Anreicherung) an *freien* Aminosäuren beruht zum einen auf der unter Stress verstärkten Proteolyse bei verminderter Proteinsynthese und zum anderen auf der Neusynthese *freier* Aminosäuren (Kreeb, 1996; Larcher, 2003).

Von den proteinogenen Aminosäuren gilt besonders das *freie* Prolin als Stressmarker. Es wird in höheren Pflanzen stressbedingt akkumuliert und wurde bisher für die Stressoren UV-Strahlung (Saradhi *et al.*, 1995), Hitze (Chang & Lee, 1999), Kälte (Wanner & Junttila, 1999), Wassermangel (Sarker *et al.*, 1999; Bergmann *et al.*, 2002; Zirr, 2008), Salinität (Soussi *et al.*, 1998; Ali *et al.*, 1999)

und Schwermetalle (Mehta & Gaur, 1999) nachgewiesen. Angaben im Zusammenhang mit P-Stress (Überschuss oder Mangel) konnten in der Literatur für *freies* Prolin nicht gefunden werden. Die Bedeutung von *freiem* Prolin für die Stressbewältigung (Abbildung 1.8) erklärt sich einerseits aus seiner Fähigkeit Singulett-Sauerstoff und Hydroxylradikale zu entgiften (Saradhi *et al.*, 1995; Matysik *et al.*, 2002). Andererseits wirkt *freies* Prolin osmoprotektiv (Bergmann *et al.*, 2002). Neben der Prolinakkumulation konnte auch für andere Aminosäuren wie Arginin und Ornithin (Bray *et al.*, 1991) oder Alanin, Asparagin und Cystein (El-Shintinawy & El-Ansary, 2000) eine Anreicherung bei verschiedenen Stressoren beschrieben werden. Hinter der Bedeutung von *freiem* Prolin für Stressreaktionen bleiben diese Aminosäuren aber weit zurück.

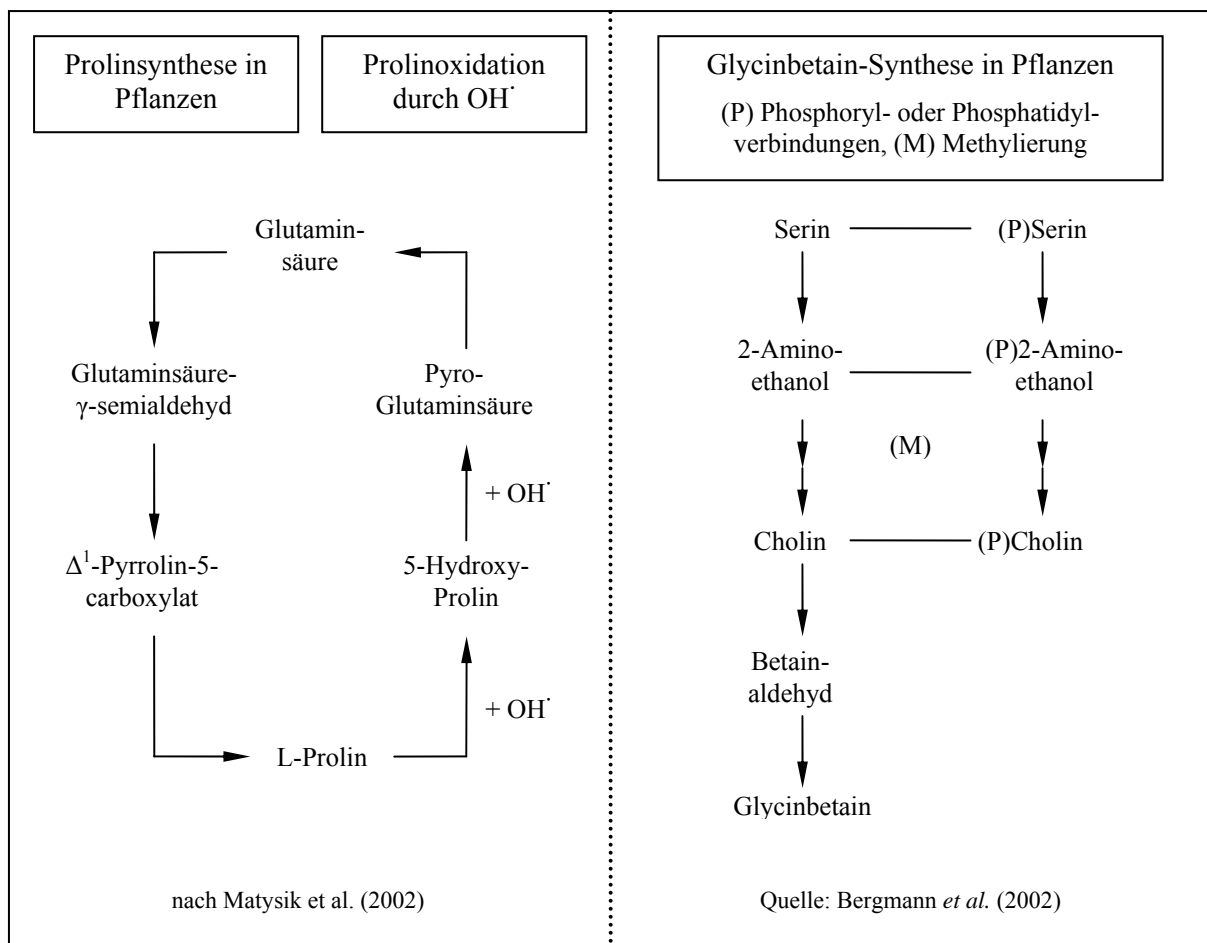


Abbildung 1.8: Prolinsynthese, Prolinoxidation durch Hydroxylradikale und Glycinbetain-Synthese

Unter den nicht proteinogenen Aminosäuren ist besonders das Glycinbetain näher untersucht. Es ist ein weiterer Stressmetabolit, der als Reaktion auf Salinität (Bray *et al.*, 1991) oder Trockenstress (Bergmann *et al.*, 2002) von höheren Pflanzen synthetisiert wird. Mit Betainen wie Cholin-o-sulfat, β -Alaninbetain und DMSP zählt Glycinbetain auch zu den osmotisch aktiven Substanzen, die selbst wenn sie in hohen Konzentrationen vorliegen, die Aktivität zytoplasmatischer Enzyme nicht beeinflussen und damit eine Schutzfunktion erfüllen (McNeil *et al.*, 1999).

Eine Betainbehandlung kann in Pflanzen die Stresstoleranz verbessern und unter Wassermangel, Salinität oder Kälte (Mäkelä *et al.*, 1996; Agboma *et al.*, 1997; Allard *et al.*, 1998; Lippmann *et al.*, 1998) das Wachstum stimulieren. Bei Applikation von 2-Aminoethanol (2AE) oder Cholin, beides Vorstufen des Glycinbetains (Abbildung 1.8), wird das Wachstum ebenfalls gefördert (Bergmann *et al.*, 1998; Bergmann *et al.*, 2002), wobei im Unterschied zum Betain durch 2AE die Korntragsbildung bei Getreide unter Stressbedingungen eindeutig positiver beeinflusst wird (Bergmann *et al.*, 2002). Die besseren Erträge bei 2AE behandelten stressexponierten Getreidepflanzen beruhen auf einer Steigerung physiologischer Aktivitäten in den Ähren (Bergmann *et al.*, 1991), einer Zunahme der Feinwurzeloberfläche um 20-25 % (Lippmann *et al.*, 1998) und einem verminderten Chlorophyllabbau unter Stress (Wejnar, 1989; Mascher *et al.*, 2005).

Bei Untersuchungen von *freiem* Prolin und *freiem* Glycinbetain von Bergmann *et al.* (2002) zeigten sich für beide osmotisch wirksamen Substanzen unter Trockenstress sehr ähnliche Effekte. Für die physiologisch-biochemischen Untersuchungen sollte deshalb nur eine Substanz analysiert werden. Da die zur Verfügung stehende Methode zur Bestimmung von *freiem* Prolin im Vergleich zu der des Glycinbetains schneller und effektiver war, wurde in dieser Arbeit *freies* Prolin bestimmt. Von den Vorstufen des Glycinbetains, die unter P-Überschuss bei der Stressbeeinflussung getestet werden sollten, wurde nach Auswertung anderer Untersuchungen (Bergmann *et al.*, 1991; Eckert *et al.*, 1992; Bergmann *et al.*, 1998; Lippmann *et al.*, 1998; Bergmann *et al.*, 2002) 2AE ausgewählt.

1.4. Zielstellung der Arbeit

Anhand morphologischer und physiologisch-biochemischer Indikatoren sollen die Stressreaktionen der Gräser *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* auf geo-pedochemische Stressoren analysiert werden, um neben der Prozessanalyse auch neue Erkenntnisse für die Anwendung von Stressindikatoren in der pflanzlichen Stressanalytik zu gewinnen. Hierin eignet sich der in der Vergangenheit durch Düngemittelproduktion belastete Standort „Steudnitz“ mit seinen hohen Phosphat- und Cadmiumgehalten im Boden ausgezeichnet.

Ferner sollen die Konkurrenzvorteile von *Arrhenatherum elatius* infolge abnehmender geopedogener Belastungen im Vergleich zu *Elymus repens* diskutiert werden, die ihre Populationsdynamik am Standort „Steudnitz“ vor, während und nach den Belastungen durch die Staubemissionen des ehemaligen Emittenten erklären könnten.

Im Rahmen der vorgelegten Arbeit sollen folgende Arbeitsschritte durchgeführt werden, die folgende Zielstellungen beinhalten:

- 1) Charakterisierung und Dokumentation der pflanzlichen Stressreaktion in Verbindung mit Phosphatüberschüssen im Boden, da auf diesem Gebiet bisher nur sehr wenig Forschungsarbeit geleistet wurde.
- 2) Bodenuntersuchungen am Standort „Steudnitz“ zur Bestimmung standort-prägender bodenchemischer und bodenphysikalischer Faktoren sowie die Einschätzung der insbesondere durch Phosphatüberschuss bedingten aktuellen geo-pedochemischen Belastungssituation

- 3) Untersuchungen zum Stressverhalten (als Resultat von Bio-Geo-Interaktionen) der beiden am Standort „Steudnitz“ vorkommenden Grasarten *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* auf Bodensubstrat mit Phosphatüberschuss wie auch Phosphatmangel im Modellversuch (*Gefäßversuch A*)
- 4) Untersuchungen zum Einfluss des Stickstoff-Versorgungsstatus in Pflanzen auf die Stressreaktion bei Phosphatbelastung (*Gefäßversuch B*, *Versuch C* im Freiland)
- 5) Untersuchungen zur Beeinflussung der artspezifischen geo-pedogen beeinflussten Stressreaktionen der beiden standorttypischen Gräser *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* durch eine Bodenbehandlung mit Calciumcarbonat (*Gefäßversuch A*), Eisenchelat sowie eine Pflanzenbehandlung mit 2-Aminoethanol (*Gefäßversuch B*, *Versuch C* im Freiland) für spätere denkbare Phytoremediations- und Sanierungsmaßnahmen

2. Material und Methoden

Die vorliegende Arbeit wurde mit dem Ziel initiiert Bio-Geo-Interaktionen in einem durch Phosphatdüngerproduktion belasteten Ökosystem zu untersuchen, zu bewerten und wenn möglich auch zu beeinflussen. Um die dafür notwendigen Aufgaben bearbeiten zu können, wurde die Arbeit in die zwei Hauptbereiche Bodenuntersuchungen in der Nähe eines ehemaligen P-Emittenten (Untersuchungsgebiet) und Pflanzenmodellversuche zu P-Stress unterteilt. Die Bodenuntersuchungen sollten dabei die momentane Belastungssituation am Standort erforschen und vor allem auch die Grundlage für die Pflanzenversuche bilden. Die Pflanzenversuche A, B und C untersuchten die Stressreaktion an ausgewählten Pflanzen durch P im Boden und prüften daran anschließend Möglichkeiten zur Beeinflussung dieser Stressreaktion im Blick auf Sanierungs- und Remediationsvorhaben.

2.1. Lage der Bodenproben-Entnahmestellen und der Versuchsflächen im

Untersuchungsgebiet „Steudnitz“

Für die Einschätzung des aktuellen Bodenzustandes (Belastung?) im Untersuchungsgebiet war es zunächst notwendig die Stellen für die Bodenentnahme festzulegen und für eine spätere Widerfindung zu vermessen. Die Entnahme der Bodenproben im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ erfolgte mit zunehmender Entfernung von der ehemaligen Emissionsquelle entlang eines ca. 200 m langen „Transektes III“, im Folgenden nur noch als Transekt bezeichnet, der vom Institut für Ökologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena bereits 1991 angelegt wurde (Metzner *et al.*, 1997). Der Transekt liegt quer zur Hauptwindrichtung an einem ostexponierten Hang unmittelbar neben der ehemaligen Produktionsstätte und wurde geomorphologisch in Unterhang, Mittelhang und Oberhang eingeteilt (Abbildung 2.1).

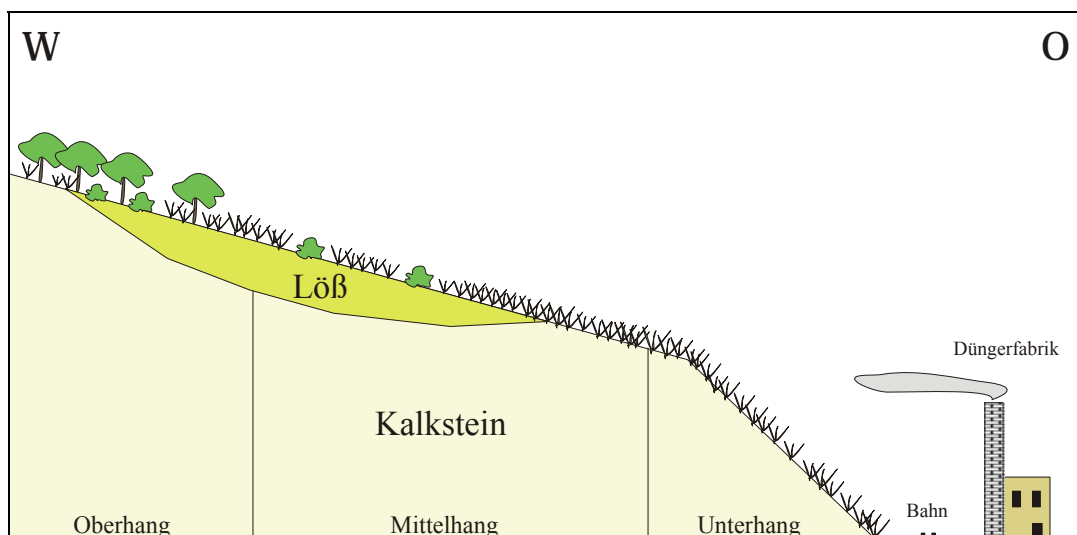


Abbildung 2.1: Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ - Schnitt durch die drei Hangabschnitte entlang des untersuchten Transektes (Maßstab 1:1000)

Auf einen schon vorhandenen Transekt zurückzugreifen, hatte den Vorteil, dass Bodendaten aus früheren Untersuchungen vorlagen. Diese älteren Daten mit den aktuellen eigenen Bodendaten später in der Diskussion zu vergleichen ist vor allem im Hinblick auf eine mögliche zeitliche Veränderung der Bodenbelastung sehr bedeutsam.

Als Bodenproben-Entnahmestellen wurden je fünf Stellen für jeden der drei Hangabschnitte entlang des Transektes ausgewählt. Und zusätzlich, um die Belastung der Bodenproben überhaupt einschätzen zu können, wurde eine unbelastete Referenzstelle entgegen der Hauptwindrichtung 6 km entfernt in der Ortschaft Porstendorf beprobt. Die Vermessung der Positionen (Tabelle 2.1) erfolgte mittels GPS (Geoexplorer, Trimble Navigation) nach dem derzeitigen Stand der Technik in einer hohen Auflösung durch den Abgleich zu einer bekannten Basis. Dieser Aufwand wurde notwendig, da eine gewöhnliche GPS-Messung nicht die nötige Auflösungsschärfe erreicht hätte, um die einzelnen Entnahmestellen korrekt zu erfassen.

Tabelle 2.1: GPS-Positionen der Bodenproben-Entnahmestellen und der Versuchsflächen im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“

Punkt	Hang	Rechtswert	Hochwert	GPS Höhe	Vert. Präzi.	Horiz. Präz.
P1	U	4477984,187	5653472,484	137,471	0,7	1,1
P2	U	4477978,342	5653474,975	141,392	0,6	0,9
P3	U	4477965,275	5653486,763	153,998	0,1	0,2
P4	U	4477962,772	5653495,442	158,583	0,2	0,3
P5	U	4477952,183	5653509,100	168,640	0,1	0,2
P6	M	4477970,485	5653557,887	167,189	0,1	0,2
P7	M	4477960,838	5653564,719	170,759	0,1	0,2
P8	M	4477953,421	5653568,375	173,057	0,2	0,3
P9	M	4477946,378	5653572,338	175,021	0,2	0,2
P10	M	4477938,033	5653574,122	175,745	3,4	2,2
P11	O	4477919,805	5653580,632	181,966	0,3	0,4
P12	O	4477906,021	5653584,003	184,294	0,1	0,2
P13	O	4477898,195	5653585,258	185,986	0,2	0,3
P14	O	4477890,822	5653584,779	188,046	0,2	0,5
P15	O	4477882,199	5653583,537	189,459	0,2	0,4
RfPo	-	4475373,047	5649429,104	164,360	0,2	0,4
BVB	U	4477941,616	5653422,512	145,526	0,2	0,4
BVC	M	4477942,529	5653580,946	176,678	0,2	0,4

GPS ... Global Position System; Vert. Präz. ... Vertikale Präzision; Horiz. Präz. ... Horizontale Präzision; U, M, O ... Unter-, Mittel- und Oberhang; RfPo ... Referenzstelle in Porstendorf; BVB ... Entnahmestelle des Bodens für *Gefäßversuch B*; BVC ... Standort für *Versuch C*

Neben den Entnahmestellen für die Bodenproben wurden auch die Stelle für die Entnahme des Bodensubstrates für *Gefäßversuch B* und die Versuchsfläche für den *Versuch C* im Untersuchungsgebiet ausgewählt und per GPS vermessen. Die Auswahl der Stelle bzw. der Fläche erfolgte nach den Versuchsanforderungen. Das Bodensubstrat für den *Gefäßversuch B* sollte stark mit P belastet sein

und wurde deshalb näher am ehemaligen Emittenten am Unterhang (Tabelle 2.1) bis zu einer Tiefe von 10 cm entnommen. Für den *Versuch C* im Freiland war entscheidend, dass neben einer hohen Bodenbelastung mit P vor allem die beiden konkurrierenden Gräser *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* bereits auf der Versuchsfläche vorkamen. Außerdem musste die Versuchsfläche auch gut zugänglich sein und durfte andere wissenschaftliche Arbeiten im Untersuchungsgebiet nicht beeinträchtigen. Eine solche Fläche wurde am Mittelhang (Tabelle 2.1) gefunden.

2.2. Bodenuntersuchungen

Nachdem im vorangegangenen Kapitel 2.1 die Lage der Bodenprobe-Entnahmestellen detailliert dargestellt wurde, erfolgt nun anschließend die Beschreibung der eigentlichen Probenentnahme und der physikalisch-chemischen Analyseverfahren der für die späteren Betrachtungen notwendigen Bodenparameter.

2.2.1. Bodenprobenahme

Die Bodenproben vom Standort „Steudnitz“ wurden nach den geostatistisch-begründeten derzeit gültigen Empfehlungen für Grünlandstandorte (Thun *et al.*, 1991) des Verbandes deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA) entnommen. Die Probenentnahme erfolgte zum Vergleich an zwei unterschiedlichen Zeitpunkten der Vegetationsruhe. Der erste Zeitpunkt wurde auf den 14.10.2003 nach Beendigung der Vegetationsperiode im Herbst und der zweite Zeitpunkt auf den 20.04.2004 vor Beginn der Vegetationsperiode im Frühjahr gelegt. Die Proben während der Vegetationsruhe zu entnehmen garantierte dem Forschungsvorhaben entsprechend, dass das verfügbare Elementangebot des Bodens von pflanzlichen und mikrobiellen Aktivitäten weitgehend unbeeinflusst war.

Nach den oben genannten Empfehlungen wurde 10 cm tief beprobt. Eine Bodenprobe bestand aus fünf zufälligen Einstichen (\varnothing 5 cm) mit einem Maximalabstand von einem Meter um die gekennzeichnete Entnahmestelle herum. Der Boden aus den Einstichen wurde sofort nach der Entnahme gemischt und die Gesamtmenge des Bodens durch das vorgeschriebene Teilungsverfahren verkleinert. Der so erhaltene Mischboden pro Entnahmestelle wurde auf 1 g genau gewogen und unverzüglich, um den mikrobiellen Abbau des verfügbaren N zu verhindern, in Kühlboxen gekühlt ins Labor gebracht und bei -20 °C eingefroren.

2.2.2. pH-Wert-Messung und Maximale Wasserhaltekapazität im Boden

Nach Alef (1991) wurden 10 g luftgetrockneter, gesiebter Boden (\varnothing 2 mm) in ein Becherglas eingewogen (0,01 g genau) mit 25 mL 0,01 M CaCl_2 -Lösung (Roth) versetzt, gut durchgerührt und 1 h stehengelassen. Das pH-Messgerät (Microprocessor pH Meter pH 539, WTW) wurde mit Pufferlösungen pH 4 und pH 7 (WTW) geeicht. Anschließend wurde der pH-Wert der überstehenden klaren Lösung bei konstanter Temperatur auf zwei Stellen nach dem Komma genau gemessen.

Für die maximale Wasserhaltekapazität (Max. WHK) wurden 10 g Boden (0,01 g genau) in einen Trichter mit Filter (fein bis mittelporig, 6 Mn, 390, Freiburger Zellstoff- und Papierfabrik) eingefüllt und mit Wasser 1 h gesättigt. Von Trichter und Filter war das Trockengewicht (105 °C, 24 h) bekannt. Nach Abtropfen des Wassers wurden Trichter mit Filter und Boden gewogen und anschließend bei 105 °C (WSU 102, MLW Labortechnik) bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und erneut gewogen. Die so bestimmte absolute Wasseraufnahme ist im Verhältnis zur Bodenmasse die Max. WHK (Alef, 1991).

2.2.3. Pflanzenverfügbare Phosphor im Boden

In der vorliegenden Arbeit wurde der pflanzenverfügbare Phosphor, abweichend von den in Deutschland üblichen Methoden CAL oder DL, als *Olsen P* mit der NaHCO_3 -Extraktion (Olsen *et al.*, 1954) bestimmt, da nach dem objektiven Ansatz *Olsen P* (Kapitel 1.2) für die zu untersuchenden CaCO_3 -reichen Böden den beiden anderen Methoden stets vorzuziehen ist (Thun *et al.*, 1991; Zorn & Krause, 1999; Delgado & Torrent, 2000).

Die Messungen wurden nach dem derzeit gültigen Verfahren der VDLUFA (Thun *et al.*, 1991) durchgeführt. Das Prinzip beruht auf der Extraktion des löslichen Phosphates mit NaHCO_3 bei pH 8,5 und anschließender photometrischer Bestimmung als Molybdänblau.

Lösungen

- Extraktionslösung: 0,5 M NaHCO_3 (Fluka) mit 1 M NaOH (Roth) auf pH 8,5 einstellen
- Neutralisationslösung: 2 M H_2SO_4 (Roth)
- Indikatorlösung: 0,1 % (m:v) 2,4-Dinitrophenol (Merck) in Ethanol (Roth)
- P-Stammlösung: 9,6 mg KH_2PO_4 (Acros Organics); zum Haltbarmachen 0,5 mL 0,5 M H_2SO_4 zugeben und auf 1L Aqua bidest. auffüllen
- Eich-Standardlösungen: 0 – 1 – 2 – 4 – 6 – 8 – 10 mL der P-Stammlösung in 25 mL Messkolben mit 5 mL Extraktionslösung vorbereiten, entspricht bei der Messung → 0 – 5 – 10 – 20 – 30 – 40 – 50 $\mu\text{g P}_2\text{O}_5$ in 25 mL

Für die Analyse wurden 5 g (0,01 g genau) des auf 2 mm gesiebten trockenen Bodens in Kunststoffflaschen eingewogen und mit 100 mL Extraktionslösung 30 min bei 30-35 U min^{-1} geschüttelt (R030, Gerhardt). Die Lösung wurde filtriert (Filter fein bis mittelporig, 6 Mn, 390, Freiburger Zellstoff- und Papierfabrik) und die ersten 10 mL verworfen. Die Eich-Standardlösungen wurden vorbereitet. Für die Proben wurden 5 mL Filtrat (bei Bedarf verdünnen) in Reagenzgläser gegeben. In ein Reagenzglas pro Charge wurden fünf Tropfen Indikatorlösung gegeben und mit Neutralisationslösung von gelb nach farblos titriert. Diese Menge an verbrauchter Neutralisationslösung wurde auch in alle anderen Eich-Standardlösungen und Proben gegeben. Danach wurde auf ca. 20 mL mit Aqua bidest. aufgefüllt. Nach 1 h wurden zu den Eich-Standardlösungen und Proben 4 mL Gebrauchsreagenz gegeben und zuletzt mit Aqua bidest. auf 25 mL aufgefüllt.

Färbereagenzien (Gebrauchsreagenz)

Reagenz A:	4 M H ₂ SO ₄
Reagenz B:	1,92 % (m:v) (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4 H ₂ O (Laborchemie Apolda)
Reagenz C:	0,044 % (m:v) K(SbO)C ₄ H ₄ O ₆ ·0,5 H ₂ O (Chemapol)
Reagenz D:	1,69 % (m:v) Ascorbinsäure (Merck) (täglich frisch)
Gebrauchreagenz:	1:1:1:1 (v:v:v:v) aus Reagenzien A, B, C und D

Bei 820 nm wurde die Absorption der Eich-Standardlösungen und der Proben gegen den Nullwert der Eichreihe im UV/VIS Spektralphotometer DU® 640 (Beckman Coulter) gemessen. Anhand der Eichgerade wurden die in den Böden enthaltenen pflanzenverfügbaren Phosphorgehalte anschließend berechnet.

2.2.4. Pflanzenverfügbare Stickstoff im Boden

Der pflanzenverfügbare Stickstoff (N_{min}) wurde in dieser Arbeit ausschließlich in der Form des Nitrat-N bestimmt. Auf die Bestimmung des Ammonium-N wurde bewusst verzichtet, da nach Scheffer & Schachtschabel (2002) Ammonium-N nur in unbedeutenden Mengen in den Proben zu erwarten war, mit der Begründung, dass die Nitrifikation durch Mikroben in Böden temperierten Klimas wesentlich schneller verläuft als die Ammonifikation. Der N_{min} im Boden wurde nach den derzeit gültigen Empfehlungen des VDLUFA (Thun *et al.*, 1991) bestimmt. Das Prinzip beruht auf der Extraktion des Nitrats mit einer schwachen Salzlösung und anschließender spektralphotometrischer Messung.

Lösungen

Extraktionslösung:	12,5 mM CaCl ₂ (Roth)
Nitratlösung:	2 mg L ⁻¹ N als KNO ₃ (Schering-Adlershof) in Extraktionslösung (täglich frisch) ansetzen
Eich-Standardreihe:	0 – 2,5 – 5 – 10 – 15 – 20 mL Nitratlösung in Reagenzgläser geben und mit Extraktionslösung auf 25 mL auffüllen und 1 mL 1 M H ₂ SO ₄ (Roth) zugeben → 0 – 5 – 10 – 20 – 30 – 40 µg Nitrat-N in 25 mL

Für die Bestimmung wurde der gekühlte Boden durch ein Sieb mit 5 mm Maschenweite gedrückt. Danach wurden die Bodenproben flach ausgebreitet und 4-8 h bei 105 °C getrocknet (WSU 102, MLW Labortechnik). In Schüttelflaschen aus Kunststoff wurden 50 g (0,01 g genau) eingewogen. Die Proben wurden mit 200 mL Extraktionslösung 1 h bei 30-35 U min⁻¹ geschüttelt (R030, Gerhardt), anschließend mit N-freien Filtern (fein bis mittelporig, 6 Mn, 390, Freiburger Zellstoff- und Papierfabrik) filtriert und die ersten 50 mL verworfen.

Für jede Probe wurden zwei Reagenzgläser mit je 5 mL des Filtrates befüllt, auf 25 mL mit Extraktionslösung ergänzt und danach mit 1 mL 1 M H₂SO₄ (Roth) versetzt. Das erste Reagenzglas (Messprobe) blieb ab diesem Zeitpunkt unbeeinflusst. In das zweite Reagenzglas (Referenzprobe)

wurden 3-4 verkupferte Zinkgranalien (Merck) gegeben und über Nacht belassen. Durch an den Zinkgranalien entstehenden naszierenden Wasserstoff wurde dabei das in der Referenzprobe enthaltene Nitrat zu molekularem Stickstoff ($N_2\uparrow$) reduziert und entwich.

Am nächsten Tag wurde die Eich-Standardreihe hergestellt und die Absorptionen bei 210 nm im UV/VIS Spektralphotometer DU[®] 640 (Beckman Coulter) gemessen. Danach wurden die Messproben gegen ihre Referenzproben gemessen und damit mögliche Farbunterschiede der Filtrate ausgeglichen. Zuletzt wurden die in den Böden enthaltenen verfügbaren N-Mengen aus Nitrat anhand der Eichgerade berechnet.

2.2.5. Königswasseraufschluss der Bodenproben

Der Königswasseraufschluss wurde angepasst an die verwendete Behrotest[®]-Apparatur (Behr Labortechnik) nach den gültigen Empfehlungen des VDLUFA (Thun *et al.*, 1991) durchgeführt. Dafür wurden 5 g (0,01 g genau) des gesiebten (\varnothing 2 mm) trockenen Bodens in die Aufschlussgefäße der Behrotest[®]-Apparatur eingewogen und mit 18 mL HCl 37 % p.a. (Roth) und 6 mL HNO₃ \geq 65 % p.a. (Roth) versetzt. Anschließend wurden mit 6 mL 1,5 M HNO₃ befüllte Absorptionsröhrchen auf die Aufschlussgefäße gesteckt und alles über Nacht unter den Abzug gestellt. Am nächsten Tag wurden die Proben mit den Aufschlussgefäßen in die Behrotest[®]-Apparatur gestellt und 2 h bei 120 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden die Proben durch mehrmaliges spülen mit Aqua bidest. in 100 mL Maßkolben überführt und nach Erreichen der Zimmertemperatur bis zum Eichstrich aufgefüllt. Die Lösung wurde anschließend filtriert (Filter fein bis mittelporig, 6 Mn, 390, Freiburger Zellstoff- und Papierfabrik) und die ersten 20-30 mL verworfen. Die verbleibende klare Lösung wurde für die Elementbestimmung in der ICP-OES aufbewahrt.

2.2.6. Bestimmung der Elementgehalte mit der ICP-OES

Die Königswasseraufschlüsse der Bodenproben (Kapitel 2.2.5) wurden wie auch die Mikrowellenaufschlüsse der Pflanzenproben (Kapitel 2.4.1) in der ICP-OES (Liberty 150, VARIAN) auf ihren Elementgehalt hin vermessen. Die Auswahl der gemessenen Elemente war gezielt anhand der Versuchsanforderungen vorgenommen worden und variierte leicht zwischen Boden- und Pflanzenanalysen (Tabelle 2.2).

Tabelle 2.2: ICP-OES - Gemessene Elemente und verwendete Standardlösungen

Analysen	Analysierte Elemente	Standardlösungen
Boden	Al, Ca, Cd, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Zn	4 mL Spex + 100 mg P (Merck) auf 100 mL Aqua bidest.
Pflanzen	Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Zn und z.T. Cd	1 mL Spex + 10 mg K (Merck) + 5 mg Mg (Merck) auf 100 mL Aqua bidest.

Die Elemente K, Mg, Na, P und das Schwermetall Cd wurden im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ im Übermaß freigesetzt (Kapitel 1.1) und sollten überprüft werden. Darüber hinaus sollte auch das

Gefährdungspotential von Cd eingeschätzt werden. Al, Ca und Fe wurden analysiert, weil sie die Löslichkeit von P in der Bodenlösung (Scheffer & Schachtschabel, 2002) und damit dessen Verfügbarkeit beeinflussen. Fe, Mn und Zn sind wichtige Elemente im Stoffwechsel der Pflanze z.B. der Superoxid-Dismutase-Isoenzyme. Sie könnten durch die hohen Boden-P-Gehalte in ihrer Aufnahme gestört sein (Neilsen *et al.*, 1992; Delgado & Torrent, 1999) und darüber die pflanzliche Stressreaktion beeinflussen.

Um die Qualität der Analyseergebnisse hinreichend zu sichern, wurde für jede Pflanzenprobe eine Doppelbestimmung und für jede Bodenprobe eine Vierfachbestimmung durchgeführt. Diese wurden dann wiederum doppelt in der ICP-OES vermessen. Zusätzlich wurden systematisch Referenzkits untersucht. Weiterhin wurden für die Messungen die in Tabelle 2.2 angegebenen Standardlösungen in die Untersuchungsreihen einbezogen. Zur Ermittlung der Nachweisgrenzen wurde jeweils zehnmal der Blindwert bestimmt (Funk *et al.*, 2005). Die Probenvorbereitung der Blindwerte war gleich der Vorbereitungen der Boden- bzw. Pflanzenproben. Die Nachweisgrenze wurde aus dem arithmetischen Mittelwert der zehn Blindwerte zuzüglich der zweifachen Standardabweichung ermittelt.

2.3. Pflanzenversuche – Versuchsaufbau und Kultivierung der Pflanzen

Für die Untersuchungen der Stressreaktion in Pflanzen durch P im Boden (P-Exzess am Standort „Steudnitz“) und die Beeinflussung dieser P-Wirkung in Pflanzen im Blick auf Remediations- und Sanierungsstrategien wurden drei Modellversuche, die *Gefäßversuche A* und *B* und der *Versuch C* im Freiland (am Standort „Steudnitz“), durchgeführt. Als pflanzliche Testobjekte wurden, aufgrund ihrer Ausbreitung im Untersuchungsgebiet, vor, während und nach den Emissionen (Kapitel 1.1), die zwei Süßgräser (Poaceae = Gramineae) aus der Unterfamilie Pooideae (auch Festucoideae) *Arrhenatherum elatius* (= Glatthafer) und *Elymus repens* (= Quecke; Synonyme nach Mansfeld's World Database (2002): *Agropyron repens*, *Elytrigia repens*, *Triticum repens* u.a.) ausgewählt. Das Saatgut beider Spezies wurde von der Deutschen Saatveredelung bezogen. Darüber hinaus wurde für eine bessere Einschätzung der physiologischen, biochemischen und molekularbiologischen Parameter noch eine dritte in der Literatur häufiger beschriebene Spezies *Avena sativa* cv. Poretto (= Hafer) zum Vergleich gewählt und in allen Versuchen mit untersucht. Bei *Avena sativa* handelt es sich ebenfalls um einen Vertreter der Poaceae aus der Unterfamilie Pooideae. Das Saatgut wurde von der SW Seed bezogen.

2.3.1. Versuchsaufbau des Gefäßversuches A

Der *Gefäßversuch A* untersuchte im Modell die Stressreaktion unterschiedlicher Boden-P-Gehalte und die Beeinflussung dieser Reaktion bei gleichzeitig im Boden vorkommendem CaCO_3 auf die drei ausgewählten Versuchsgräser. Zu diesem Zweck wurde der Versuch in zwei Varianten durchgeführt (Tabelle 2.3). In der ersten Variante wurde die reine P-Wirkung untersucht. Dafür wurden Bodensubstrate mit sieben verschiedenen P-Konzentrationen 25; 50; 100; 140; 250; 500 und 1000 mg P kg^{-1} BoTM hergestellt und mit den drei Versuchsgräsern bepflanzt. Als P-Salz fand gut pflanzenverfügbares K_2HPO_4 Verwendung. Drei der P-Konzentrationen lagen unterhalb (P-Mangel)

und drei oberhalb (P-Überschuss) des nach Bergmann *et al.* (2002) festgelegten P-Optimums von 140 mg P kg^{-1} BoTM. Die geringste P-Menge (25 mg) war so gewählt, dass sie noch den kleinsten bei den Bodenuntersuchungen gemessenen pflanzenverfügbaren P-Gehalt (Tabelle 3.2), der an der unbelasteten Referenzstelle in Porstendorf gemessen wurde, unterschritt. Der höchste P-Gehalt (1000 mg) wurde in einem Vorversuch als Obergrenze ermittelt, da hier speziesabhängig gerade noch Wachstum möglich war. Die P-Gehalte 50, 100, 250 und 500 mg waren selbst gewählte Zwischenstufen. Um die nötige statistische Sicherheit zu erreichen, wurden für jeden Boden-P-Gehalt je Spezies sieben Parallelen untersucht.

Tabelle 2.3: Aufbau des Gefäßversuches A

Spezies	<i>Arrhenatherum elatius, Elymus repens, Avena sativa</i>						
Variante 1	25 mg P n = 7	50 mg P n = 7	100 mg P n = 7	140 mg P n = 7	250 mg P n = 7	500 mg P n = 7	1000 mg P n = 7
Variante 2	25 mg P + CaCO ₃ n = 5	50 mg P + CaCO ₃ n = 5	100 mg P + CaCO ₃ n = 5	140 mg P + CaCO ₃ n = 5	250 mg P + CaCO ₃ n = 5	500 mg P + CaCO ₃ n = 5	1000 mg P + CaCO ₃ n = 5

CaCO₃ entspricht $6500 \text{ mg CaCO}_3 \text{ kg}^{-1}$ BoTM; n ... Anzahl der Parallelen

In der zweiten Versuchsvariante, den Untersuchungen zum CaCO₃-Einfluss, wurde ein mehrfacher äquimolarer CaCO₃-Überschuss ($6500 \text{ mg CaCO}_3 \text{ kg}^{-1}$ BoTM) gegenüber P in allen sieben P-Stufen (25; 50; 100; 140; 250; 500 und 1000 mg) eingesetzt. Die Menge war anhand der Formel für Apatit ($\text{Ca}_5[(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{Cl}, \text{OH}, \frac{1}{2} \text{CO}_3)]$) so berechnet, dass genug Ca-Atome als mögliche Bindungspartner für P in der höchsten Dosis $1000 \text{ mg P kg}^{-1}$ BoTM bereitstanden. Zu jedem Boden-P-Gehalt gab es hier je Spezies fünf Parallelen.

Tabelle 2.4: Gefäßversuches A - Grunddüngung des Sandsubstrates

Grunddüngung [mg kg^{-1} BoTM]	
Makroelemente	Mikroelemente
N 200 mg als NH_4NO_3	B 0,24 mg als $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$
P je nach Applikation als K_2HPO_4	Cu 0,6 mg als $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$
K 350 mg als K_2SO_4	Mn 0,6 mg als $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$
Mg 160 mg als $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$	Mo 0,24 mg als $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$
Ca 160 mg als $\text{CaSO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$	Zn 1 mg als $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$
Fe 2,4 mg als Fe-Chelat (Fe(III)-EDTA, MG 345,1)	Hoagland o. A-Z Lösung (1:100 mit Aqua bidest. verdünnt) 10 mL

Beiden Varianten gemeinsam war die Verwendung von speziell gereinigtem Quarzsand (ZuS-Haida) Korngröße 0,25-0,4 mm als Bodensubstrat. Auf reinen Quarzsand zu kultivieren bot den Vorteil, dass die Wirkung der zu testenden Elemente ohne Störung unerwünschter Verunreinigungen

gemessen werden konnte. Die Grunddüngung wurde nach Bergmann *et al.* (2002) so gewählt, dass ein optimales Pflanzenwachstum gewährleistet war (siehe Tabelle 2.4).

2.3.2. Versuchsaufbau des Gefäßversuches B

Im *Gefäßversuch B* wurden verschiedene Zusätze hinsichtlich ihrer stressbeeinflussenden Wirkung bei P-Überschuss im Boden an den drei bekannten Versuchsgräsern untersucht. Wesentliches Ziel dieser Untersuchungen war es Instrumente für mögliche Phytoremediations- und Sanierungsmaßnahmen zu erhalten. Dafür wurde an einer Stelle des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“ (Tabelle 2.1) stark mit P belasteter Boden ca. 10 cm tief abgegraben. Im Labor wurde der Boden gesiebt (\varnothing 5 mm) und, um ein einheitliches Substrat zu bekommen, gut durchgemischt und danach in die Töpfe eingefüllt.

Der Versuchsaufbau (Tabelle 2.5) sah für jede der drei Spezies je fünf Versuchsvarianten, d.h. vier Maßnahmen und eine Kontrolle mit jeweils fünf Parallelen vor. Daneben wurden noch fünf unbepflanzte Töpfe, einer pro Versuchsvariante, als Blindwerte der Boden-pH-Werte mitgeführt.

Tabelle 2.5: Aufbau des *Gefäßversuches B*

Spezies	<i>Arrhenatherum elatius</i> , <i>Elymus repens</i> , <i>Avena sativa</i>				
Versuchsvarianten	Kontrolle n = 5	N n = 5	P n = 5	Fe n = 5	2-Aminoethanol n = 5

Folgende Varianten wurden auf ihre stressbeeinflussende Wirkung in den Versuchsgräser für *Gefäßversuch B* untersucht: eine N-Variante gedüngt mit 200 mg N kg^{-1} BoTM als NH_4NO_3 ; eine P-Variante mit 140 mg P kg^{-1} BoTM als K_2HPO_4 gedüngt und eine Fe-Variante gedüngt mit $2,4 \text{ mg Fe kg}^{-1}$ BoTM als Fe-Chelat (Fe(III)-EDTA). Für die vierte Versuchsvariante wuchsen die Pflanzen zunächst unbehandelt bis zum Zweiblattstadium (ca. zwei Wochen alt) und wurden dann mit einer wässrigen 10 mM Lösung des Stresstoleranzaktivators 2-Aminoethanol (2AE) besprüht (4 mg 2AE dm^{-2}). Die Kontrollvarianten der Versuchsgräser wuchsen auf dem reinen Stanorts substrat und wurden nicht gedüngt bzw. nicht behandelt.

Für ein besseres Verständnis des Lesers und um mögliche Effekte der Instrumente besser darstellen zu können, wurde der *Gefäßversuch B* im Ergebnisteil dieser Arbeit noch einmal unterteilt. In Teil 1 wurde die Wirkung der Erhöhung verfügbarer N- und P-Gehalte im Boden auf die Versuchsgräser dargestellt. Teil 2 beschreibt die Auswirkungen des Fe-Chelates und der 2AE-Applikation. Die Kontrollvarianten der Versuchsgräser dienten in beiden Versuchsteilen als Referenz.

2.3.3. Kultivierung der Pflanzen in den Gefäßversuchen A und B

Die Pflanzen beider Gefäßversuche wurden in Klimaschränken (EL 36) der Percival Scientific Inc. unter kontrollierten Bedingungen: Licht/Dunkel 16/8 h (Photonenfluxdichte $550 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) Temperatur 22/16 °C und relative Luftfeuchte 60-70 % zwischen Januar 2003 und Juni 2004

kultiviert. Um die auftretenden Unterschiede bei Licht, Temperatur und Verdunstung aufgrund der Positionen der Töpfe (Länge x Breite x Höhe: 10 x 10 x 6 cm) innerhalb der Klimaschränke auszugleichen, wurde beim täglichen Gießen ein Rotationsverfahren eingesetzt.

Die Samenmenge war für alle drei Spezies mit 1 g pro Gefäß identisch. Die Töpfe waren zu Beginn der Versuche zum Schutz vor Austrocknung und damit garantiert zeitgleicher Samenquellung mit lichtdurchlässigen Plastiktüten verschlossen. Nach einer Woche wurden die Tüten geöffnet und um ein Umfallen der wachsenden Pflanzen zu verhindern, straff um den Topf gespannt. Die Wassermenge (Aqua dest.) zum Gießen war zum Start der Experimente mit 60 % der maximalen Wasserhaltekapazität optimal bemessen und wurde durch Wägung dem Verbrauch angepasst nachgefüllt. Dabei war aber zu beachten, dass mit der Biomassezunahme durch Wachstum das Gesamtgewicht der Töpfe stieg und mit Zunahme der Blattfläche auch eine stärkere Verdunstung stattfand.

Die Ernte der Pflanzen der Gefäßversuche erfolgte nach ca. fünf Wochen am Ende der Bestockung kurz vor Beginn des Sprossschiebens. Für die Ernte wurden die Pflanzen ausgetopft, die Wurzeln mit Wasser sauber gespült, Spross und Wurzel getrennt, bonitiert, die Biomasse festgestellt und sofort bei -20 °C eingefroren. Die Pflanzenteile wurden schnellstmöglich lyophilisiert (Alpha 1-4, Christ) und danach fein gemahlen (A10, IKA®). Die Zwischen- und die Langzeit-Lagerung erfolgten bei -20 °C.

2.3.4. Versuch C - Versuchsaufbau und Wachstumsbedingungen der im Freiland kultivierten Pflanzen

Der Versuch C (Abbildung 2.2) stellte eine Wiederholung des Gefäßversuches B (Kapitel 2.3.2) unter den natürlichen Umweltbedingungen eines realen gestörten Ökosystems dar. Er hatte zum Ziel die unter Laborbedingungen gewonnenen Ergebnisse aus Gefäßversuch B im Freiland zu überprüfen und für Phytoremediations- und Sanierungsstrategien in ähnlich gestörten Ökosystemen zu bewerten.



Abbildung 2.2: Versuchsaufbau des Versuches C am Standort „Stednitz“ - linkes Foto zu Beginn des Versuches, rechtes Foto nach 10 Wochen

Der Versuch C wurde im Jahr 2004 durchgeführt. Der im Unterschied zum Klimaschrank (Gefäßversuch B) zu erwartende größere Einfluss klimatischer und biotischer Stressoren war gemäß

der Aufgabenstellung gewünscht. Eine Wiederholung des *Versuches C*, der immer im Zusammenhang mit *Gefäßversuch B* zu sehen ist, erschien nicht sinnvoll. In der Auswertung wurden alle diese Umstände selbstverständlich berücksichtigt.

Eine den Versuchsanforderungen entsprechende Fläche (starke P-Belastung des Bodens, gemeinsames Vorkommen von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens*) wurde schließlich am Mittelhang des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“ gefunden (Kapitel 2.1). Die Versuchsfläche war 2 x 2 m groß und wurde vor Beginn des Experimentes vollständig von der vorhandenen Vegetation befreit. Die Versuchsfläche wurde aufgrund der drei Versuchsspezies und der fünf Versuchsvarianten in dreimal fünf Plots eingeteilt (Abbildung 2.2). Die Größe eines Plots war 50 x 30 cm (0,15 m²) umgeben von einer ungenutzten Pufferzone von 10 cm Breite. Die Anordnung der jeweils drei gleichbehandelten Plots, einer je Versuchsspezies, erfolgte längs der Hangneigung, um eine Vermischung zwischen den Varianten des Versuchs durch Auswaschung eingesetzter Zusätze bei Regen zu verhindern.

Um die gleichen Mengen der Zusätze wie in *Gefäßversuch B* zu bekommen, wurde die Menge auf Basis eines Gefäßes (10 x 10 cm) mit dem Faktor 15 multipliziert, was der Fläche eines Plots entsprach. So wurden 15 g Samen je Grasspezies auf einem Plot verteilt und je nach stressbeeinflussendem Instrument N (7,0 g N m⁻² als NH₄NO₃), P (4,9 g P m⁻² als K₂HPO₄) oder Fe-Chelat (0,084 g Fe m⁻² als Fe(III)-EDTA) ausgebracht. Für die Sprühapplikation mit 2-Aminoethanol (2AE) wuchsen die Pflanzen zunächst unbehandelt wie die Kontrollpflanzen wurden dann aber im Zweiblattstadium mit wässriger 10 mM 2AE-Lösung (0,4 g m⁻²) besprüht. Aus jedem Plot wurden für die Untersuchungen willkürlich vier parallele Proben gezogen. Dabei entsprach eine Probe des *Versuches C* in ihren Ausmaßen einer Probe aus den Gefäßversuchen.

Der *Versuch C* startete zu Beginn der Vegetationsperiode am 14.04.2004, um der umgebenden Vegetation keinen Vorteil zu bieten, und endete am 28.06.2004 mit der Ernte der Pflanzen am Ende der Bestockung kurz vor dem Sprossschieben. Die Ernte der Pflanzen und die Lagerung erfolgten wie in den Gefäßversuchen (Kapitel 2.3.3). Innerhalb des Versuchszeitraumes war die umweltbedingte Wasserversorgung sehr unterschiedlich. Trocken war es im April (31 mm), tagesabhängig sehr feucht im Mai (83 mm) und wieder trocken im Juni (43 mm). Es gab keine zusätzlichen Wassergaben. Die Durchschnittstemperaturen waren 10,3 °C im April, 12,3 °C im Mai und 16,4 °C im Juni (FH-Jena, 2006).

2.4. Pflanzenuntersuchungen

Nachdem im vorangegangenen Kapitel 2.3 Versuchsaufbau und Kultivierung der Pflanzenversuche ausführlich dargestellt wurden, folgt jetzt anschließend die Beschreibung der Pflanzenuntersuchungen zur Erforschung der pflanzlichen Stressreaktion an den Versuchsgräsern.

2.4.1. Mikrowellen-Druck-Aufschluss zur Elementbestimmung in Pflanzenmaterial

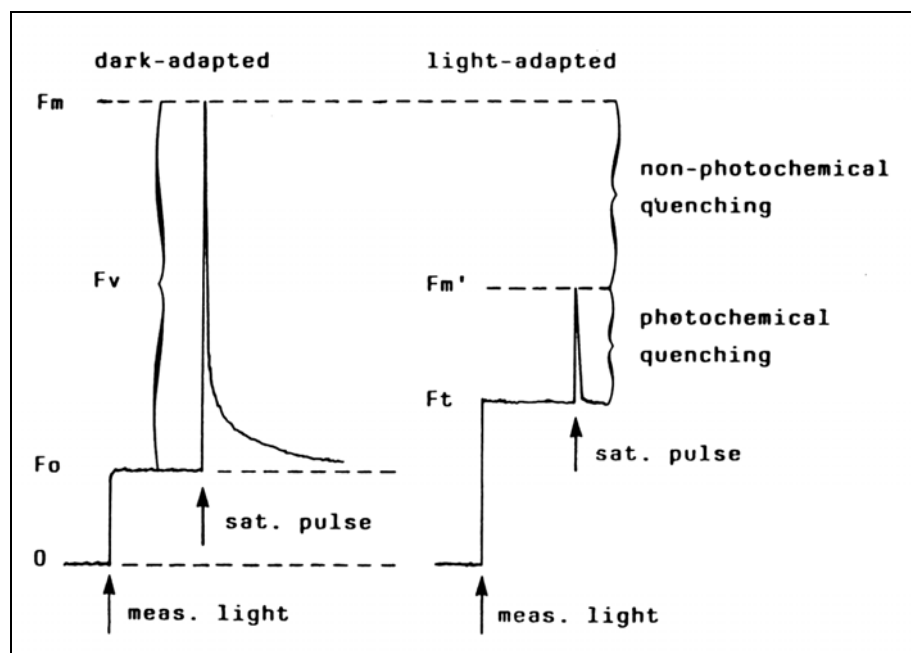
Für den Mikrowellen-Druck-Aufschluss wurden an die Herstellervorgaben der Mikrowellenapparatur PMD 2 der Firma Kürner angepasst 0,1 g für Spross- bzw. 0,05 g für Wurzelproben

gefriergetrocknetes Pflanzenmaterial in Quarzgläser (0,0001 g genau) eingewogen und nach Zugabe von 2 mL $\text{HNO}_3 \geq 65\%$ p.a. (Roth) in der Apparatur 8 min bei 75 bar aufgeschlossen. Die erhaltene klare Aufschlusslösung wurde in Probenröhrchen überspült, dann auf 15 mL mit Aqua bidest. aufgefüllt und aufbewahrt. Die Elementbestimmung erfolgte anschließend wie in Kapitel 2.2.6 beschrieben in der ICP-OES.

2.4.2. Messung der Chlorophyll-Fluoreszenz

Die Chlorophyll-Fluoreszenz-Messung ist eine sensitive Methode zur frühen detaillierten Analyse von Stresseffekten auf den Photosyntheseapparat von Pflanzen. Die von den Chlorophyllmolekülen absorbierte Lichtenergie wird entweder für photosynthetische Prozesse genutzt, als Wärme abgegeben oder als Fluoreszenz abgestrahlt. Bei Raumtemperatur stammt die Fluoreszenz von Chlorophyll a-Molekülen des Photosystems II (PS II). Es werden zwei Arten des Fluoreszenz-Quenchings unterschieden: photochemisches Quenching erfolgt durch die Energietransformation an den Reaktionszentren des PS II, während nicht-photochemisches Quenching vor allem die Abgabe als Wärme umfasst (Schreiber *et al.*, 1998; Meyer & Genty, 1999; Schreiber, 2003).

Die Messungen der Chlorophyll-Fluoreszenz an den Versuchsgräsern *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und *Avena sativa* erfolgten mit einem Puls-Amplituden-Modulationsfluorometer (PAM-2000) der Firma Heinz Walz nach folgendem Protokoll (Abbildung 2.3):



Quelle: Manuel-PAM-2000 (1993)

Abbildung 2.3: Parameter der Chlorophyll a-Fluoreszenz

- Zeitpunkt der Messung an den Pflanzen: am Ende der Bestockung kurz vor Beginn des Sprossschiebens
- 15 min aktinisches Licht ($500 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

- Zugabe eines Lichtsättigungsimpulses ($6000 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Dauer 0,6 sec zur vollständigen Reduktion des primären Akzeptors der Elektronentransportkette, wobei kein photochemisches Quenching der Fluoreszenz erfolgt und das verbleibende Quenching der Lichtenergie nicht photochemisch ist, im Anschluss daran automatisch die Messung der Parameter F'_m (maximale Fluoreszenz mit Licht), F'_0 (minimale Fluoreszenz mit Licht) und F_t (transiente Fluoreszenz) der lichtadaptierten Probe)
- 15 min Verdunkelung im abgeschalteten Klimaschrank bei den Gefäßversuchen oder mit blickdichtem Schwarztuch im Freiland
- Messung F_m (maximale Fluoreszenz ohne Licht) und F_0 (minimale Fluoreszenz ohne Licht) der dunkeladaptierten Probe

Berechnete Parameter

Effektive Quantenausbeute des PS II (Manuel-PAM-2000, 1993)

$$\Delta F / F'_m = \frac{F'_m - F_t}{F'_m}$$

Maximale Quantenausbeute des PS II als Verhältnis von variabler zu maximaler Fluoreszenz (Manuel-PAM-2000, 1993)

$$F_v / F_m = \frac{F_m - F_0}{F_m}$$

2.4.3. Bestimmung des Stressmetaboliten freie Aminosäure Prolin

Für den Prolin-Nachweis wurde eine vielfach bewährte Methode (Bates *et al.*, 1973) auf die Bestimmung in Poaceae (Gräsern) modifiziert und angepasst. Das Prinzip basiert auf dem allgemeinen Aminosäure-Nachweis mit Ninhydrin. Da Prolin eine sekundäre Aminogruppe enthält, d.h. N ist über zwei C-Atome im Molekül gebunden, stoppt die Reaktion nach Anlagerung eines Ninhydrinmoleküls und abschließender Decarboxylierung. Es wird kein zweites Molekül Ninhydrin unter Abspaltung eines Aldehydes angelagert. Das Additionsprodukt Prolin-Ninhydrin färbt die Lösung gelb bis orangerot.

Lösungen

Sulfosalicylsäurelösung:	3 % (m:v) 5-Sulfosalicylsäure Dihydrat (Roth)
Ninhydrinlösung:	1,25 g Ninhydrin (Roth) in 80mL 100 %ige Essigsäure (Roth) lösen und 8,1 mL 85 %ige H_3PO_4 (Roth) zugeben; auf 100 mL mit Aqua bidest. auffüllen

Für die Analyse wurden 0,03 – 0,05 g des lyophilisierten gemahlten Pflanzenmaterials mit 2,5 mL Sulfosalicylsäurelösung 1 min im Mörser verrieben und anschließend in Zentrifugenröhrchen überführt. Der Mörser wurde mit 2,5 mL Sulfosalicylsäurelösung nachgespült und die Lösung ebenfalls in das Zentrifugenröhrchen überführt.

Die Lösungen wurden 10 min bei 4800 U min^{-1} , 4°C (GS-15R, Beckman Coulter) zentrifugiert. Zweimal 1 mL des Überstandes wurde in je ein Schliff-Röhrchen abpipettiert, 2 mL Ninhydrinlösung zugegeben, verschlossen und 10 s geschüttelt (VF2, IKA®). Nach 60 min im 100°C Wasserbad (1008, GFL®) wurde die Reaktion im Eisbad gestoppt, 2 mL Toluol 99,8 % (Roth) zur Aufnahme des Farbstoffes zugegeben und 20 s geschüttelt. Das Toluol-Farbstoff-Gemisch wurde in 2 mL Tubes überführt und nach Erwärmung auf Zimmertemperatur in halbmikro Küvetten (Plastibrand®, Brand) im UV/VIS Spektralphotometer DU® 640 (Beckman Coulter) dreimal bei 520 nm gegen Blindwert (reines Toluol) gemessen. Über eine Prolin-Eichgerade (0,005; 0,010; 0,025; 0,050; 0,100; 0,250; 0,500 μmol Prolin (Roth) mL^{-1}) wurden die Konzentrationen berechnet.

2.4.4. Extraktion der in Phosphat-Puffer löslichen Proteine

Das lyophilisierte fein gemahlene Pflanzenmaterial (0,1 g) wurde 3 min in einem vorgekühlten Mörser mit 2 mL Extraktions-Puffer verrieben. Anschließend wurde der Mörser mit zwei mal 100 μL Extraktions-Puffer nachgespült und alles zusammen 20 min bei 4800 U min^{-1} zentrifugiert (GS-15R, Beckman Coulter). Die Überstände mit den gelösten Proteinen wurden in Zentrifugen-Tubes gesammelt. Um die noch im Pellet verbliebene Proteine zu gewinnen, wurde es mit 500 μL Extraktions-Puffer resuspendiert (VF2, IKA®) und ein zweites Mal zentrifugiert.

Lösungen

Extraktions-Puffer: 0,0154 g Dithioerythrol (Roth) + 2 g Polyvenylpyrrolidon (Roth) in 100 mL 50 mM $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ pH 7,2 (Acros Organics) auflösen
Dialyse-Puffer: 5 mM $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$, pH 7,2

Nach der Zentrifugation aller gesammelten Überstände bei 14000 U min^{-1} (Centrifuge 5402, Eppendorf) erfolgte die Dialyse der Proteinextrakte (Dialysierschlauch Visking 36/32 Poren <14000 Dicke 0,8, Roth) gegen 5 L Dialyse-Puffer bei mehrmaligem Wechsel des Dialyse-Puffers über 8 h. Der erhaltene klare in Phosphat-Puffer lösliche Proteinextrakt wurde zur Proteinbestimmung und zur Zymographie verwendet.

2.4.5. Bestimmung des löslichen Proteingehaltes nach Bradford

Das Prinzip der seit Jahrzehnten bewährten Bradford-Methode beruht auf einer Bindung der Proteine an Coomassie Brilliant Blue G-250 mit daraus resultierender Verschiebung des Absorptionsmaximum von 465 nm auf 595 nm (Bradford, 1976). Der Vorteil dieser Methode ist ihre Schnelligkeit und ihr geringer Verbrauch an Probenmaterial.

Bradford-Reagenz: 0,06 g Coomassie Brilliant Blue G250 (Serva) mit 50 mL Ethanol (Roth) 3h rühren; danach 100 mL 80%ige (v:v) H₃PO₄ (Roth) zugeben und mit Aqua bidest. auf 1L auffüllen; zuletzt 0,5 mL 1 %iges (m:v) Triton X-100 (Fluka) zugeben (Während der Herstellung und Lagerung vor Licht schützen!)

Für die Bestimmung wurden 2,5 µL Proteinextrakt mit 17,5 µL Aqua bidest. und 1 mL Bradford-Reagenz in ein Tube pipettiert, geschüttelt (VF2, IKA®) und nach frühestens 10 min, aber innerhalb von einer Stunde die Absorption im UV/VIS Spektralphotometer DU® 640 (Beckman Coulter) bei 465 nm und 595 nm gemessen. Die Messwerte sollten zwischen 0,1 und 1,0 liegen. Beim Blindwert ersetzte Aqua bidest. die Menge des Proteinextraktes. Die Quotienten 595/465 wurden gebildet und die Proteingehalte über eine mit Rinder-Serum-Albumin erstellte Eichgerade berechnet.

2.4.6. Enzymatische Untersuchungen

2.4.6.1. Nachweis der Superoxid-Dismutasen mit der nichtdenaturierenden Polyacrylamid-Gelelektrophorese (Native-PAGE) und anschließender Zymographie

Die hier angewandte und für Gräser optimierte (Mascher *et al.*, 2005) diskontinuierliche Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE) nach (Laemmli, 1970) beruht auf dem Prinzip einer spezifischen Kombination der Ionenzusammensetzung des Elektroden-Puffers und der pH-Diskontinuität zwischen Sammel- und Trenngel. Die Proteine werden dabei im Sammelgel auf eine schmale Zone aufkonzentriert und ergeben daher bei der Auftrennung im Trenngel schärfere Proteinbanden. Auf dieser Grundlage wurden die Superoxid-Dismutase(SOD)-Isoenzyme aufgetrennt und anschließend durch eine Enzymaktivitätsfärbung (Zymographie) nachgewiesen.

Elektrophorese-Lösungen

Monomerlösung:	Rotiporese® Gel 30 (Roth) entspricht: 300 g Acrylamid + 8 g Bisacrylamid auf 1 L Aqua bidest.
Trenngel-Puffer:	1,5 M Tris (Roth) mit HCl (Fluka) auf pH 8,8
Sammelgel-Puffer:	0,5 M Tris mit HCl auf pH 6,8
APS-Lösung:	10 % (m:v) Ammoniumperoxidisulfat (Serva)
Proben-Puffer:	1,5 g Tris + 20 g Glycerin (Laborchemie Apolda) + 0,037 g EDTA (Roth) + 2 mL 1 M Dithioerithrol (Roth) + 0,03 g Bromphenolblau (Serva) in 50 mL Aqua bidest lösen; mit HCl auf pH 6,8 einstellen und anschließend mit Aqua bidest. auf 100 mL auffüllen
Elektroden-Puffer:	15,14 g Tris + 72,06 g Glycin (Roth) auf 1 L mit Aqua bidest. auffüllen

Die nichtdenaturierende Polyacrylamid-Gelelektrophorese (Native-PAGE) zur Auftrennung des in Phosphat-Puffer löslichen Proteinextraktes (Kapitel 2.4.4) wurde in 10 %igen Polyacrylamid-Trenngelen mit vorgeschaltetem 4 %igen Polyacrylamid-Sammelgelen (120 x 110 x 1 mm) in einer Biometra® Elektrophorese-Apparatur nach Mascher *et al.* (2005) und den entsprechenden

Empfehlungen von Biometra[®] durchgeführt. Dafür wurde die benötigte Menge Protein aus den Proteinextrakten entnommen, lyophilisiert (Alpha 1-4, Christ) und in 40 µL Proben-Puffer resuspendiert. Die im Puffer gelösten Proben wurden in die Geltaschen appliziert und im Sammelgel (30 V, 1 A) und im Trenngel (80 V, 1 A) bei 10 °C aufgetrennt.

Im Anschluss an die Auftrennung wurde zum Nachweis der SOD-Aktivität das Trenngel jeweils unter Lichtabschluss für 20 min in der NBT-Lösung und anschließend für 30 min in der Riboflavin-Lösung auf einem Schüttler (MTS4, IKA[®]) inkubiert (Beauchamp & Fridovich, 1971). Nach der Inkubation wurde das Gel auf einen Weißlichttisch überführt und bestrahlt. Durch die Bestrahlung entsteht blaues Formazan, welches das Gel dunkel färbt. Die SOD-Aktivität verhindert die Farbstoffbildung und die aktiven SOD-Isoenzyme zeichnen sich als farblose Protein-Banden vom blauen Hintergrund ab.

Färbelösungen

NBT-Lösung: 2,5 mM Nitroblautetrazoliumchlorid (Roth)
 Riboflavin-Lösung: 0,0026 g Riboflavin (Merck) + 1,06 mL N,N,N',N'-Tetramethyl-Ethylen-diamin (Roth) mit 50 mM K₂HPO₄/K₂HPO₄ (Acros Organics) auf pH 7,8 titrieren

Für die Analyse der SOD-Aktivität und für die Dokumentation wurden die Gele mit dem BioDoc-Analyse-Video-System (Biometra[®]) eingescannt und digital gespeichert. Die Auswertung erfolgte mit der Software AIDA 2.0 (Raytest-Isotopenmessgeräte).

2.4.6.2. Hemmtest zur Identifikation der Superoxid-Dismutase-Isoenzyme

Für die Identifikation der SOD-Isoenzyme wurde die unterschiedliche Sensitivität (Aktivitätsverlust) der SOD-Isoenzyme gegenüber bestimmten chemischen Hemmstoffen genutzt. Die Cu/Zn-SOD sind sensitiv gegen H₂O₂ und KCN, die Fe-SOD werden nur durch H₂O₂ gehemmt. Die Mn-SOD sind resistent gegenüber beiden Chemikalien. (Weisiger & Fridovich, 1973; Kawaguchi *et al.*, 1989; Sheng *et al.*, 2004)

Lösungen

Phosphat-Puffer: 50 mM K₂HPO₄/K₂HPO₄ pH 7,8 (Acros Organics)
 KCN-Lösung: 2 mM KCN in Phosphat-Puffer
 H₂O₂-Lösung: 5 mM H₂O₂ in Phosphat-Puffer

Ein Gel wurde mit drei Parallelen der selben Probe appliziert und aufgetrennt wie in Kapitel 2.4.6.1 beschrieben. Danach wurde das Gel in drei Teile mit je einer Parallele zerschnitten. Je eins der Gelteilstücke wurde 20 min in Phosphat-Puffer, KCN-Lösung oder H₂O₂-Lösung inkubiert. Danach wurden die Gelteilstücke abgespült und wie in Kapitel 2.4.6.1 angefärbt und dokumentiert. Die

Zuordnung wurde über einen Vergleich der Aktivität (Färbung Ja o. Nein) der SOD-Isoenzyme in den Lösungen getroffen.

2.4.6.3. Größenbestimmung der Superoxid-Dismutasen mit der denaturierenden Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) und anschließender Zymographie

Die Sodium-Dodecyl-Sulfate-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) wurde nach (Laemmli, 1970) durchgeführt. Die SOD-Isoenzyme wurden wie in Kapitel 2.4.6.1 beschrieben aufgetrennt und die Einzelbanden aus dem Gel ausgestochen. Die SOD-Isoenzyme wurden mit SDS-Proben-Puffer (Proben-Puffer + 5 % m:v SDS (Serva)) 5 min bei 100 °C gekocht. Nach dem Abkühlen wurden die Proben wie in Kapitel 2.4.6.1 beschrieben auf ein SDS-Gel (Trenngel-Puffer + 0,3 % m:v SDS; Sammelgel-Puffer + 0,2 % m:v SDS) aufgetragen und mit Roti[®]-mark Standard (Roth) zusammen gelelektrophoretisch getrennt (Elektroden-Puffer + 0,5 % m:v SDS)

Im Anschluss an die Auftrennung wurde das Gel gefärbt:

- Gel 1 h in Fixierlösung geschüttelt (MTS4, IKA[®]), drei mal in 50 % (v:v) Ethanol (Roth) gewaschen
- 1 min in Thiosulfatlösung geschwenkt, dreimal mit Aqua bidest. gewaschen
- 20 min in Silberlösung geschüttelt, dreimal mit Aqua bidest. gewaschen
- Entwicklungslösung bis gewünschte Intensität (ca. 30 min)
- Vorgang mit Fixierlösung gestoppt, drei mal in 50 % (v:v) Ethanol gewaschen

Färbelösungen

Fixierlösung:	100 mL Methanol (Roth) + 30 mL Essigsäure (Roth) + 125 µL Formaldehyd (Roth) mit Aqua bidest. auf 250 mL auffüllen
Thiosulfatlösung:	0,05 g Na ₂ S ₂ O ₃ (Roth) in 250 mL Aqua bidest. lösen
Silbernitratlösung:	0,5 g AgNO ₃ (Roth) + 187,5 µL Formaldehyd mit Aqua bidest. auf 250 mL auffüllen
Entwicklungslösung:	15 g NaCO ₃ (Fluka) + 0,001 g Na ₂ S ₂ O ₃ + 125 µL Formaldehyd mit Aqua bidest. auf 250 mL auffüllen

Die schwarz gefärbten Proteinbanden des Roti[®]-mark Standards (14,3 kD Lysozym Huhn; 20 kD Trypsin Inhibitor Soja; 29 kD Carboanhydrase; 43 kD Ovalbumin Huhn; 66 kD Serumalbumin Rind; 119 kD β-Galaktosidase *E. Coli*; 200 kD Myosin Rind) und der SOD-Isoenzyme zeichnen sich vom farblosen Hintergrund ab. Über die R_F-Werte wurden die apparenten Molekülgrößen der SOD-Isoenzyme durch den Vergleich mit dem Standard bestimmt.

2.5. Statistische Methoden

Die Datengrundlage für die Ergebnisse und die Diskussionen bilden die arithmetischen Mittel der Messwerte (Mittelwerte). Alle Datenreihen wurden auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-

Anpassungstest) und die statistischen Tests durch Berechnung der Irrtumswahrscheinlichkeit (P) auf ihre Signifikanz untersucht. Die Auswertung erfolgte nach: $P > 0,05$ nicht signifikant, $P < 0,05$ signifikant, $P < 0,01$ hoch signifikant und $P < 0,001$ höchst signifikant (Bühl & Zöfel, 2002). Für die Berechnungen wurde das Statistik-Computer-Programm SPSS 13.0 eingesetzt. Folgende statistische Kriterien wurden bestimmt:

Die *Standardabweichung* ist ein Maß für die Streuung der Messwerte und berechnet sich aus der Quadratwurzel der Varianz. Sie dient dazu, einen Streubereich für die einzelnen Werte anzugeben. Trägt man die Standardabweichung zu beiden Seiten des Mittelwertes auf, so liegen bei normalverteilten Daten ca. 67 % der Werte in diesem Intervall.

Durch Mittelwertvergleiche (*Einfaktorielle ANOVA*) wurde geprüft, ob auftretende Unterschiede zwischen den Mittelwerten ein Ergebnis zufälliger Schwankungen oder statistisch gesichert waren. Aus den möglichen Test-Verfahren wurde der Student-Newman-Keuls-Test, ein Test mittlerer Strenge, für die Darstellung der Ergebnisse ausgewählt und diskutiert. Die Voraussetzung für diesen Test war die Normalverteilung.

Die *Korrelationsanalyse* ermittelt die Stärke des Zusammenhanges zwischen zwei Variablen. Berechnet wurde die Rangkorrelation nach Spearman für ordinalskalierte Variablen. Der Korrelationskoeffizient liegt stets zwischen -1 und +1, wobei die Zusammenhänge je nach Vorzeichen positiv und negativ mit bis 0,2 sehr gering, bis 0,5 gering, bis 0,7 mittel, bis 0,9 streng und bis 1 sehr streng bewertet wurden.

Mit der *Faktorenanalyse* wird eine größere Anzahl von Variablen anhand der gegebenen Fälle auf eine kleinere Anzahl unabhängiger Einflussgrößen zurückgeführt. Dabei werden diejenigen Variablen, die untereinander stark korrelieren, zu einer Einflussgröße zusammengefasst. Ziel ist es, die Faktoren zu ermitteln, welche die beobachteten Zusammenhänge zwischen den gegebenen Variablen möglichst vollständig erklären. Nach z-Transformation der Variablenwerte, d.h. Berechnung der Pearson-Korrelationskoeffizienten zwischen den beteiligten Variablen, stellt die Korrelationsmatrix den Ausgangspunkt für die Hauptkomponentenanalyse dar. Die Faktorenladungen der rotierten Faktormatrix sind das eigentliche Ergebnis der Faktoranalyse (Bühl & Zöfel, 2002). Diese Daten bildeten die Grundlage für die Clusteranalyse.

Die *Clusteranalyse* ist ein multivariates Verfahren, bei dem anhand von vorgegebenen Variablen Gruppen von Fällen gebildet werden. Dabei sollen die Mitglieder einer Gruppe möglichst ähnliche Variablenausprägungen aufweisen, d.h. nah beieinander liegen. Die Clusteranalyse erwies sich in dieser Arbeit bei der Einteilung von Belastungsstufen der standortbezogenen Bodenproben als sehr nützlich. Dabei kam die hierarchischen Clusteranalyse mit vorgeschalteter Faktorenanalyse zum Einsatz, um die Variablenanzahl im Vorfeld reduzieren zu können. Für die Bestimmung der optimalen Clusterzahl wurde von der Anzahl der Fälle die Anzahl der Schritte nach der sich der Koeffizient in der Zuordnungsübersicht der Cluster sprunghaft erhöht abgezogen (Bühl & Zöfel, 2002).

3. Ergebnisse

3.1. Belastungssituation in der Durchwurzelungszone am Transekt des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“ 2003/2004

Der Aufgabenstellung zufolge waren die aktuellen Gehalte ausgewählter Elemente im Boden des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“ zu bestimmen. Dies sollte Aufschluss über die momentane Belastungssituation bringen, bei Vergleichen mit früheren Untersuchungen mögliche zeitliche geo-pedochemische Veränderungen erkennen lassen und eine Einschätzung zukünftiger Habitatentwicklungen ermöglichen. Um diese Ziele zu erreichen, wurden die generelle Gesamtsituation des Untersuchungsgebietes anhand einer Clusteranalyse sowie die einzelnen Bodenparameter für sich und in Beziehung zueinander betrachtet. Zur Abschätzung einer möglichen bodenchemischen Belastung am Standort „Steudnitz“ wurde, neben den Angaben aus der Literatur, extra eine Referenzstelle mit untersucht (siehe dazu Kapitel 2.1).

3.1.1. *Einschätzung der bodenchemischen Situation am Belastungsstandort mittels Clusteranalyse*

Für die Einschätzung der Belastungssituation im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ mit statistischen Mitteln waren nach der Bestimmung der einzelnen bodenchemischen Parameter am Transekt und der Referenzstelle (siehe Anhang Anlage 3 und Anlage 4) nach Friedrich (2002) zwei Arbeitsschritte nötig. Im ersten Schritt wurde die Anzahl der in mehreren Analysen gewonnenen Variablen (Bodenparameter) mittels einer Faktorenanalyse wieder reduziert. Ziel war es dabei in einer Vorauswahl diejenigen Bodenparameter herauszufiltern, die die größte Bedeutung (Erklärungswert) für das Untersuchungsgebiet haben, um diese dann z.B. in der Clusteranalyse intensiver zu betrachten.

Im Ergebnis der Faktorenanalyse wurden drei Hauptkomponenten ermittelt, wobei Komponente 1 einen Erklärungswert von 46 % und Komponente 2 einen Erklärungswert von 33 % an der Gesamtvarianz aufwies. Die Komponente 3 erklärte weitere 13 % an der Gesamtvarianz. Die Anlage 2 im Anhang zeigt die drei Hauptkomponenten und gibt die Faktorenladungen der einzelnen Bodenparameter wieder. Im Ergebnis der Faktorenanalyse stellten sich der pH-Wert, die Elemente Al, Ca, Cd, Fe, Mg, Mn, Na, Zn und P sowie der verfügbare P (*Olsen P*) als entscheidende Parameter zur Beurteilung der Bodenqualität heraus. Der verfügbare N (N_{min}) und K hatten einen weitaus geringeren Erklärungswert für das Untersuchungsgebiet.

Im zweiten Schritt wurde anschließend mit der hierarchischen Clusteranalyse (Abbildung 3.1), eine Separierung der beprobten Flächen aufgrund ihrer Bodenparameter durchgeführt. Dabei gingen in die Clusteranalyse Komponente 1 und Komponente 2 als Variablen mit dem höchsten Erklärungswert ein.

Aufgrund ihrer geo-pedochemischen Belastung teilten sich die Flächen nach der Clusteranalyse in vier Gruppen (optimale Clusterzahl) unterschiedlicher Belastung auf. Im Cluster 1 fanden sich mit P1 bis P7 alle Flächen vom Unterhang und die beiden ersten Flächen des Mittelhangs. Diese Flächen waren dem ehemaligen Werk am nächsten gelegen und am stärksten von den Emissionen betroffen. So fanden sich hier auch für den Zeitraum der Probennahme 2003/2004 die höchsten Gehalte von Ca, Na

und P sowie des Schwermetalls Cd (Tabelle 3.1). Die Elemente Fe, Mg und Mn besaßen in den Flächen von Cluster 1 die geringsten Gehalte.

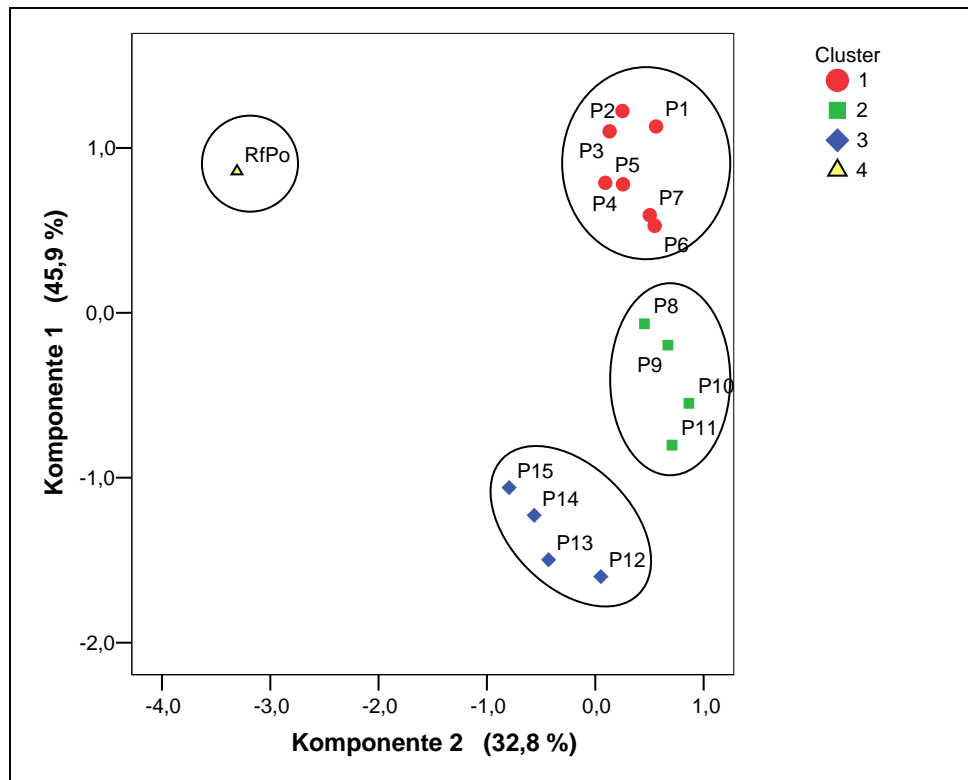


Abbildung 3.1: Einteilung der beprobten Flächen im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ und der Referenzstelle in vier Gruppen unterschiedlicher Belastung (Cluster) mittels Clusteranalyse auf der Grundlage von bodenchemischen Parametern mit hohem Erklärungswert

Cluster 2 bildeten die sich anschließenden Flächen am Mittelhang bis zum Oberhang P8 bis P11. Diese Flächen waren etwas weiter vom Emittenten entfernt und dadurch weniger stark kontaminiert. Gleichzeitig enthielten sie mehr Fe, Mg und Mn. Die im Untersuchungsgebiet am geringsten belasteten Flächen P12 bis P15 in Cluster 3 lagen am Weitesten entfernt am Oberhang. Der unbelasteten Referenzstelle wurde mit Cluster 4 ein eigenes Cluster zugewiesen. Bei einem Vergleich mit den Richtwerten deutscher Böden (Tabelle 3.1) und mit der separaten Eingruppierung der unbelasteten Referenzstelle Porstendorf in Cluster 4 wurde deutlich erkennbar, dass das gesamte untersuchte Gebiet entlang des Transektes einschließlich der gering kontaminierten Flächen am Oberhang im Zeitraum 2003/2004 noch immer belastet war.

Tabelle 3.1: Mittelwerte ausgewählter bodenchemischer Parameter¹⁾ für die ermittelten Gruppen unterschiedlicher Belastung (Cluster) am Transekt des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“ und der Referenzstelle mit Angabe der Richtwerte für deutsche Böden

boden-chemische Parameter	Cluster 1 n = 7	Cluster 2 n = 4	Cluster 3 n = 4	Cluster 4 (Referenzstelle) n = 1	Richtwerte ²⁾
Ca	242000	162000	62000	169000	1000 - 12000
Cd	13	12	8	4	0,5 - 5
Fe	7000	12000	21000	14000	2000 - 50000
K	4500	6200	4900	4700	2000 - 33000
Mg	2800	3400	5600	11000	500 - 5000
Mn	290	400	540	460	40 - 1000
Na	12800	5900	900	100	1000 - 10000
P	100000	69000	17000	900	200 - 800
Zn	78	79	72	50	10 - 80
pH-Wert	7,5	7,2	7,2	7,3	

¹⁾ alle Elementgehalte in mg kg⁻¹ BoTM

²⁾ Quelle: Scheffer & Schachtschabel (2002), für durchschnittliche deutsche Böden

3.1.2. Differenzierte Betrachtung der Bodenparameter

Nachdem die Clusteranalyse einen Überblick über den Gesamtzustand des Bodens im Untersuchungsgebiet geschaffen hat, sollen nun die einzelnen Bodenparameter näher betrachtet werden, da sie Erklärungen für die Diversität der Pflanzen am Standort und die Veränderungen im Boden gegenüber vorangegangenen Zuständen geben könnten.

3.1.2.1. Boden-pH-Wert

Im Boden ist der pH-Wert eine zentrale Größe mit besonderer Bedeutung. Er beeinflusst die physikalischen, chemischen und biologischen Bodeneigenschaften sowie die Produktivität und das Vegetationsmuster der Pflanzen direkt oder indirekt. Er wirkt sich auf die Verfügbarkeit von Nährstoffen oder toxisch wirkender Al- und Schwermetallionen, die Nitrifikation, auf das Bodengefüge und damit auf den Wasser- und den Lufthaushalt sowie die Lebensbedingungen der Bodenorganismen aus. Eine Bewertung des Bodens kann deshalb nur unter der Berücksichtigung des pH-Wertes erfolgen. Die Messungen des pH-Wertes wurden mit 0,01 M CaCl₂-Lösung (siehe Kapitel 2.2.2) durchgeführt.

Die Boden-pH-Werte waren am gesamten Transekt im Untersuchungsgebiet und auch an der Referenzstelle als leicht alkalisch zu charakterisieren. Dabei war die Streuungen der Messwerte zwischen den beiden Messzeitpunkten Oktober 2003 und April 2004 relativ gering (Abbildung 3.2, Anlage 3). Der pH-Wert stieg (Abbildung 3.2) entlang des festgelegten Transektes mit zunehmender Entfernung vom ehemaligen Emittenten von pH 7,4 (P1) auf pH 7,6 (P4) am Unterhang leicht an und fiel anschließend über die Gruppe 2 bis auf pH 7,0 (P12) am Oberhang ab, um dann in Gruppe 3 erneut leicht anzusteigen.

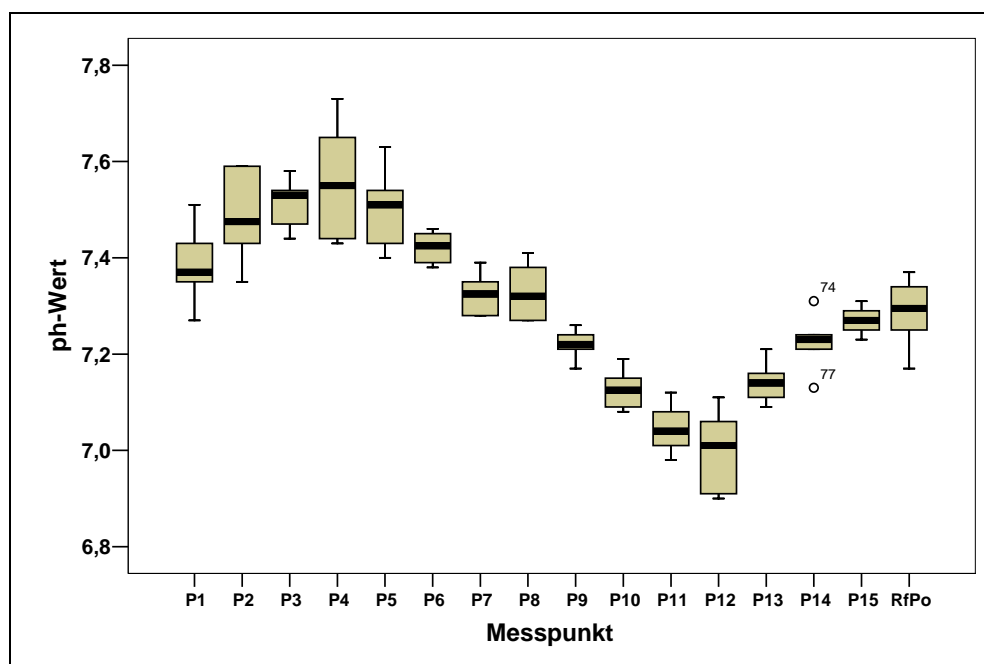


Abbildung 3.2: Boden-pH-Werte im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ entlang des Transektes im Vergleich zur unbelasteten Referenzstelle gemittelt aus Okt. 2003 und Apr. 2004 (je n=6)

Strenge Korrelationen nach Spearman ($P < 0,01$) zwischen dem pH-Wert und den Elementgehalten (Gesamtgehalte) konnten entlang des Transektes für Na (0,733) und Ca (0,730) nachgewiesen werden. Mn war streng negativ (-0,760), Al und Fe negativ mit dem pH-Wert korreliert. Zu den ebenfalls gemessenen Elementen Cd, K, Mg und auch zu P gab es keine deutlichen Beziehungen des pH-Wertes (siehe dazu Anlage 5 im Anhang).

3.1.2.2. *P-Status – Gesamt-P und pflanzenverfügbare P als Olsen P*

Phosphor gehörte zu den mengenmäßig am stärksten emittierten Elementen des Düngemittelwerkes und somit waren die Boden-P-Gehalte von zentralem Interesse in den Untersuchungen. Die gemessenen Gehalte des Gesamt-P (Abbildung 3.3) in den untersuchten Proben zeigten deutlich Höchstwerte von über $100000 \text{ mg P kg}^{-1}$ in der BoTM. Mit zunehmender Entfernung vom ehemaligen Emittenten verringerte sich der P-Gehalt entlang des Transektes bis zum Oberhang auf immer noch sehr hohe 13000 mg . Die P-Gehalte der Referenzstelle lagen im Vergleich mit ca. 900 mg (Normalgehalt $200\text{-}800 \text{ mg}$, Scheffer & Schachtschabel (2002)) weit darunter.

Trotz des deutlichen Gradienten am Transekt erfolgte der Abfall der P-Gehalte nicht durchgehend. Die sehr hohen P-Gehalte am Hangfuß verringerten sich mit zunehmender Steigung bis zum Ende des Unterhangs. Darüber, über der Hangkante zu Beginn des Mittelhangs (P6 und P7), lagen die P-Gehalte wieder auf höherem Niveau und fielen erneut mit zunehmender Entfernung vom ehemaligen Werk über den Oberhang ab. Der Gesamt-P korrelierte ($P < 0,01$) streng mit dem Element Cd (0,861)

und sehr streng mit Ca (0,962) bzw. Na (0,954) (siehe dazu Anlage 5 im Anhang). Daraus folgt für die spätere Diskussion das Cd, Na und anteilig das Ca gemeinsam emittiert worden sind.

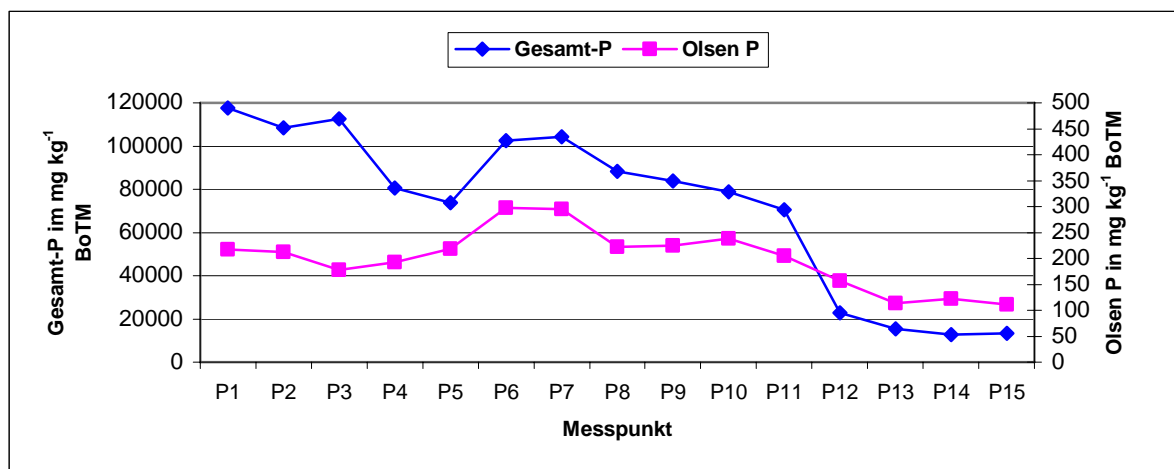


Abbildung 3.3: Gesamtposphor und pflanzenverfügbare Phosphor (*Olsen P*) entlang des Transektes im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ (Tiefe 0-100 mm)

Der für die Einschätzung möglicher geo-pedochemischer Belastungen wesentlich aussagekräftigere pflanzenverfügbare P (gemessen als *Olsen P*) schwankte entlang des Transektes zwischen 100-300 mg P kg⁻¹ BoTM. Damit waren die *Olsen P*-Gehalte 100-600 fach niedriger als die Gesamt-P-Gehalte (Tabelle 3.2). Die nicht kontaminierte Referenzstelle wies mit ca. 40 mg kg⁻¹ BoTM zwei Drittel weniger an *Olsen P* auf als der niedrigste Wert im Belastungsgebiet. Am Mittelhang (P6-P10) wurde stets, auch bei niedrigerem Gesamt-P, mehr *Olsen P* als am Unterhang (P1-P5) nachgewiesen, die P-Verfügbarkeit war somit am höchsten am Mittelhang. Anhand des Verhältnisses Gesamt P/*Olsen P* zeigte sich eine Erhöhung der P-Verfügbarkeit mit sinkendem Gesamt-P-Gehalt und zunehmender Entfernung vom ehemaligen Werk. Es gab keine eindeutige Korrelation zwischen Gesamt-P und *Olsen P* (Tabelle 3.2). Abhängigkeiten zwischen *Olsen P* und anderen Elementen wurden ebenfalls nicht beobachtet (siehe Anhang Anlage 5).

Tabelle 3.2: Verhältnis Gesamt P/*Olsen P* am Transekt des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“ und der Referenzstelle

Messpunkt	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	RfPo
Gesamt P/ <i>Olsen P</i>	600	500	600	500	400	300	400	300	300	300	300	100	100	100	100	20

Alle Werte gerundet; RfPo ... Referenzstelle in Porstendorf

3.1.2.3. N-Status – mit Schwerpunkt pflanzenverfügbare N

Die Situation des Gesamt-N im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ wurde schon ausführlich und hinreichend zu einem früheren Zeitpunkt von Friedrich (2002) untersucht. Während dieser Untersuchungen zeigte sich, dass der Gesamt-N nur ungenügend die tatsächliche N-Aufnahme in den

Pflanzen wiedergab. Zu Wachstum und biologischer Aktivität der Pflanzen viel aussagekräftiger ist dagegen der pflanzenverfügbare N (N_{\min}). Über die Gehalte des N_{\min} war aber aus dem Untersuchungsgebiet bisher nichts bekannt. Da zu dieser Arbeit aber auch Untersuchungen N-haltiger Stressmetabolite von Pflanzen zählen, war die Bestimmung der N_{\min} -Gehalte im Boden für die Bewertung der Stresssituation dringend erforderlich.

Die Messwerte des N_{\min} schwankten stark entlang des untersuchten Transektes im Untersuchungsgebiet (Abbildung 3.4, Anlage 4). Tendenziell wurden höhere Werte im mittleren Hangbereich gemessen, die niedrigsten N_{\min} -Gehalte waren am Unterhang (P1) und am Oberhang (P12). Ein Gradient entlang des Transektes konnte nicht nachgewiesen werden. N_{\min} lag zum Zeitpunkt der Probennahme im Mittel zwischen 0,6-2,1 mg N kg⁻¹ BoTM für die Referenzstelle wurden im Mittel 2,4 mg N kg⁻¹ BoTM bestimmt. Damit lag die Referenzstelle am oberen Ende der Messwerte konnte sich aber statistisch nicht von den Proben des Untersuchungsgebietes abgrenzen. Insgesamt weisen die niedrigen N_{\min} -Gehalte auf eine mögliche Unterversorgung der Pflanzen mit N im Untersuchungsgebiet hin, denn für ein normales Startwachstum von Pflanzenbeständen sind mindestens 5 mg N_{\min} kg⁻¹ BoTM erforderlich (Scheffer & Schachtschabel, 2002). Auch in den späteren Pflanzenversuchen (*Gefäßversuch B* und *Versuch C*), die auf Boden aus dem Untersuchungsgebiet basieren, ist dieser Sachverhalt der verringerten N-Verfügbarkeit berücksichtigt worden. Es wurde deshalb in den *Versuchen B* und *C* eine N-Variante mit eingefügt.

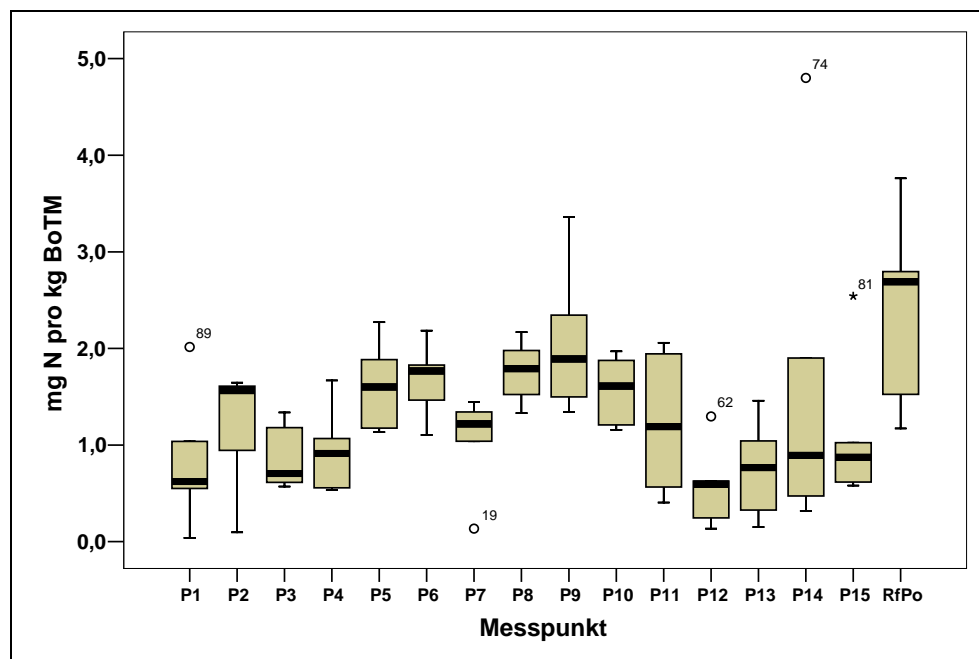


Abbildung 3.4: Pflanzenverfügbare Stickstoff (N_{\min}) entlang des Transektes im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ im Vergleich zur unbelasteten Referenzstelle gemittelt aus Okt. 2003 und Apr. 2004 (je n=6)

Setzt man nun zusätzlich die geringen N_{\min} -Gehalte in Beziehung zu den sehr hohen Gehalten des verfügbaren P (*Olsen P*) ergibt sich ein extrem verzerrtes N/P-Verhältnis von rund 1:100 im Vergleich zu den Orientierungsgrößen von 2:1 für Grünland nach Scheffer & Schachtschabel (2002). Ob diese

N/P-Disproportion sich auf die Elementverteilung in den Pflanzen auswirkte, werden die nachfolgenden Pflanzenversuche zeigen. Direkte Beziehungen von N_{\min} mit anderen analysierten Bodenelementen auf Basis strenger Korrelationen gab es nicht (siehe dazu Anhang Anlage 5).

3.1.2.4. Gesamtgehalte von Al, Ca, Cd, Fe, K, Mg, Mn, Na und Zn sowie Korrelationen und Elementverhältnisse im Boden nach Königswasseraufschluss

Die nun folgenden Elementgehalte konnten nach der Berechnung der Spearman-Korrelationen (siehe Anhang Anlage 5) in drei Gruppen eingeteilt werden. In *Gruppe 1* wurden die Elemente gefasst, die nach den freigesetzten Emissionen streng bis sehr streng positiv korrelierten. Zu dieser Gruppe gehörten Ca (auch geogen), Cd, Na und auch P (siehe Kapitel 3.1.2.2). Im Gegensatz dazu wurden in *Gruppe 2* alle zur *Gruppe 1* streng bis sehr streng negativ korrelierenden Elemente Al, Fe, Mg und Mn eingruppiert. K und Zn korrelierten nicht mit anderen Elementen und wurden *Gruppe 3* zugeordnet. Die Einzelergebnisse der detaillierten Bodenelementanalysen wurden in Anlage 3 und Anlage 4 (Anhang) zusammengefasst.

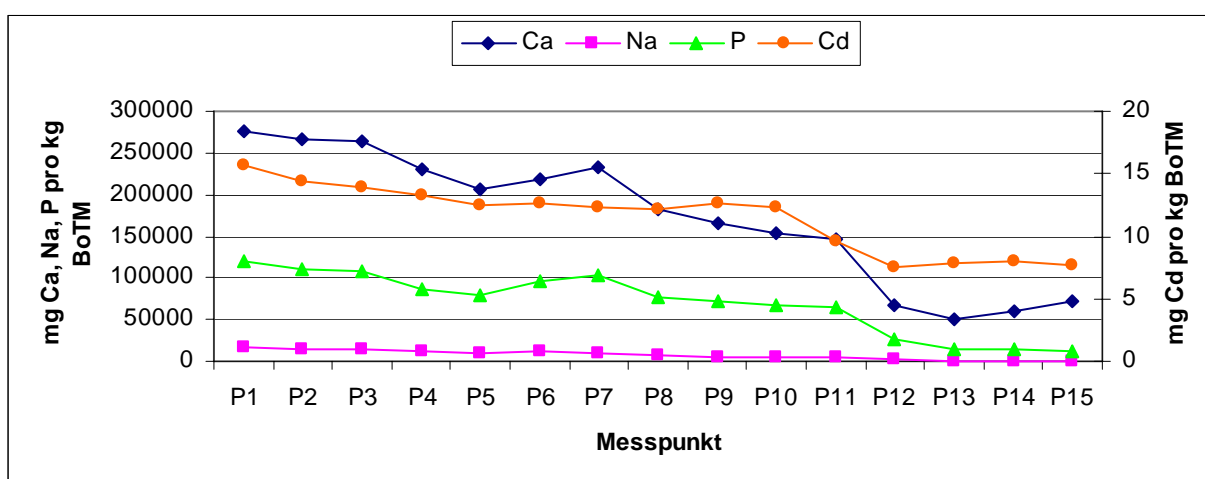


Abbildung 3.5: Konzentrationsgradient entlang des Transektes für die Elemente Ca, Na, P und Cd mit zunehmender Entfernung vom Emittenten

Charakteristisch für die Elemente der *Gruppe 1* (Abbildung 3.5) war der abnehmende Konzentrationsgradient am Transekt mit zunehmender Entfernung vom ehemaligen Emittenten. Das Element Ca wurde in Konzentrationen von 50000-280000 mg kg⁻¹ BoTM bestimmt (siehe Anhang Anlage 3). Damit hatte Ca am Unterhang einen Anteil von fast einem Drittel am Gesamtgewicht des Bodens. Es war das mit Abstand häufigste Kation. Das Schwermetall Cd überschritt am Transekt den oberen von Scheffer & Schachtschabel (2002) ausgewiesenen Richtwert (Tabelle 3.1) von 5 mg kg⁻¹ BoTM sowie den Prüfwert für Flächen des Nahrungsmittelanbaus von 2 mg kg⁻¹ BoTM (BBodSchV, 2004) in allen Messpunkten deutlich (Abbildung 3.5). Dabei schwächte sich Cd entlang des Transektes von 16 mg kg⁻¹ BoTM auf noch hohe 8 mg kg⁻¹ BoTM ab. An der Referenzstelle wurden 4 µg Cd kg⁻¹ BoTM gemessen. Das Gefährdungspotential von Cd am Standort „Steudnitz“ wird die spätere Diskussion behandeln. Na zeigte den stärksten Rückgang der Elemente am Transekt. Die Werte am

Unterhang mit Höchstwerten von 16500 mg kg^{-1} BoTM überschritten die oberen Richtwerte (Tabelle 3.1) von 10000 mg kg^{-1} BoTM sehr deutlich. Am Mittelhang halbierten sich die Na-Gehalte und fielen weiter bis auf ein Zwanzigstel (700 mg kg^{-1}) am Oberhang. Die Referenzstelle lag mit 150 mg kg^{-1} noch weit darunter (siehe Anhang Anlage 4).

Den Antagonisten in der *Gruppe 2* (Abbildung 3.6) war folglich ein steigender Konzentrationsgradient mit zunehmender Entfernung zum ehemaligen Emittenten gemeinsam. Die Fe-Gehalte stiegen von 5600 mg kg^{-1} BoTM am Unterhang auf das Vierfache 22000 mg kg^{-1} BoTM am Oberhang (siehe Anhang Anlage 3) und lagen damit in der unteren Hälfte der Richtwerte (Tabelle 3.1). Mg lag mit Werten von 2300 am Unterhang bis 6100 mg kg^{-1} BoTM am Oberhang im oberen Bereich der Richtwerte. Die Referenzstelle wies mit 11000 mg kg^{-1} BoTM fast doppelt so viel Mg auf. Die Mn-Gehalte waren mit 260 mg kg^{-1} BoTM am Unterhang ansteigend bis auf 550 mg kg^{-1} BoTM am Oberhang (siehe Anhang Anlage 4) innerhalb der Richtwerte. Al wurde in einer Spanne von 8000 bis 25000 mg kg^{-1} BoTM gemessen. Aufgrund seiner geringen Bedeutung für das Untersuchungsgebiet, bei leicht alkalischen pH-Werten wird Al nicht freigesetzt (Scheffer & Schachtschabel, 2002) sowie hoher Ca- und Mg-Gehalte (Ionenkonkurrenz), bleibt Al aber für weitergehende Betrachtungen unberücksichtigt.

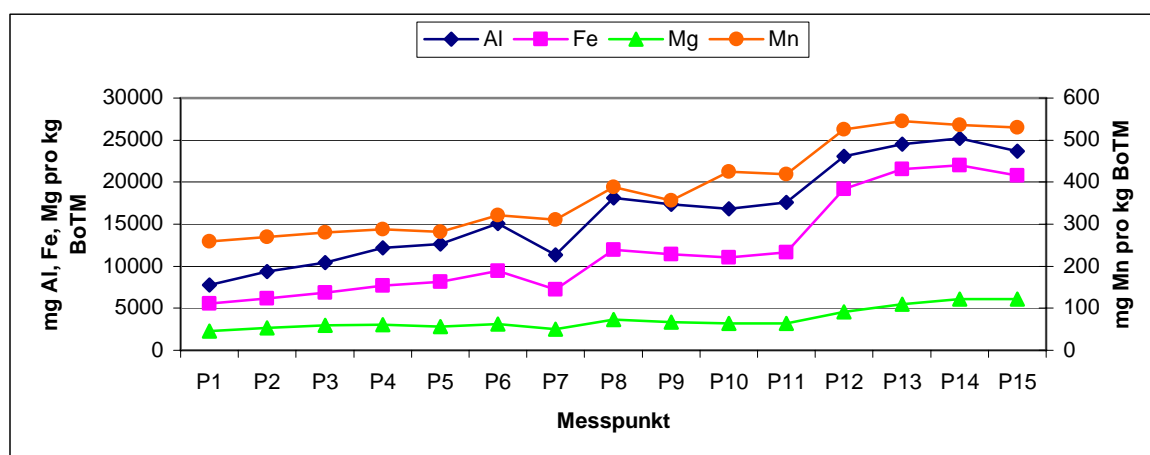


Abbildung 3.6: Konzentrationsgradient entlang des Transektes für die Elemente Al, Fe, Mg und Mn mit zunehmender Entfernung vom Emittenten

Die K-Gehalte schwankten im Untersuchungsgebiet und waren mit Werten zwischen 2300 und 6700 mg kg^{-1} BoTM (siehe Anhang Anlage 3) an der unteren Grenze der Richtwerte (Tabelle 3.1). Zn-Gehalte wurden von 70 bis 90 mg kg^{-1} BoTM gemessen (Anlage 4) und lagen dagegen an der oberen Grenze der Richtwerte. Beiden Elementen der *Gruppe 3* konnte kein Konzentrationsgradient im Untersuchungsgebiet zugeordnet werden (siehe dazu Anlage 5 im Anhang).

Neben den Gehalten der einzelnen Elemente im Boden sind es auch die Proportionen der Elemente zueinander, die eine Stressreaktion in Pflanzen bewirken können (Bergmann, 1992). Von besonderem Interesse waren dabei für den betrachteten Standort „Steudnitz“ die Elementrelationen mit den

freigesetzten Elementen Ca (auch geogen), Cd, Na oder P (Tabelle 3.3). Für eine bessere Übersichtlichkeit wurden die Elementproportionen nicht für jede einzelne Entnahmestelle im Untersuchungsgebiet, sondern auf die in der Clusteranalyse ermittelten „Belastungsgruppen“ (Cluster) berechnet.

So waren das Ca/K- und das Ca/Mg-Verhältnis im gesamten Untersuchungsgebiet (Cluster 1, 2 und 3), aber auch an der Referenzstelle (Cluster 4) zu Gunsten des Ca verschoben. Das Ca/P-Verhältnis lag indessen im Untersuchungsgebiet aufgrund der hohen P-Gehalte fast auf Niveau der „normalen“ Relationen (Tabelle 3.3). Das K/Na-Verhältnis war in Cluster 1 und 2 zum Na hin verschoben, wobei die relativ niedrigen K-Gehalte diesen Effekt noch verstärkten. Am Oberhang (Cluster 3) lag das K/Na-Verhältnis des Bodens im „normalen“ Bereich. Das K/P- und Cd/Zn-Verhältnis belegten deutlich die Anreicherung von Cd und P im Boden.

Tabelle 3.3: Elementproportionen der in der Clusteranalyse¹⁾ ermittelten „Belastungsgruppen“ (Cluster) im Vergleich zu „normalen“ Relationen²⁾

Element-verhältnis	Relationen in Gruppe 1	Relationen in Gruppe 2	Relationen in Gruppe 3	Relationen in Gruppe 4	„normale“ Relationen ²⁾
Ca/K	1:0,02	1:0,04	1:0,08	1:0,03	1: 2
Ca/Mg	1:0,01	1:0,02	1:0,09	1:0,07	1: 0,5
Ca/P	1:0,4	1:0,4	1:0,3	1:0,01	1: 0,2-0,07
K/Na	1:3,3	1:1	1:0,2	1:0,03	1: 0,5-0,3
K/P	1:26	1:11	1:3	1:0,2	1: 0,1-0,02
Cd/Zn	1:6	1:7	1:9	1:12	1: 20-16

¹⁾ siehe Kapitel 3.1.1 Clusteranalyse der Bodenproben entlang des Transektes im Untersuchungsgebietes „Steudnitz“ und der Referenzstelle in Porstendorf

²⁾ „normale“ Relationen nach den Richtwerten deutscher Böden (siehe Tabelle 3.1) erstellt

Insgesamt zeigten die Elementverhältnisse am Unterhang (Cluster 1) somit die stärksten Störungen, d.h. hier ist auch der Stress für die Pflanzen am Größten. Mit zunehmender Entfernung vom ehemaligen Emittenten (Cluster 2 und 3) verbessern sich die Proportionen normalisieren sich aber nicht völlig.

3.2. Stressreaktion von Gräsern auf P-Mangel oder P-Überschuss und Möglichkeit der Beeinflussung durch Calciumcarbonat – Gefäßversuch A

Die nachfolgenden Studien zur Stresswirkung unterschiedlicher Phosphatversorgung im vereinfachten Modellexperiment mit Sandsubstrat (Abbildung 3.7) erfolgten an den Spezies *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und *Avena sativa*. Das Ziel dieses Versuches war es Unterschiede zwischen den Spezies *Arrhenatherum elatius* (= Glatthafer) und *Elymus repens* (= Quecke) bei P-Mangel sowie P-Überschuss im Bodensubstrat zu finden, welche ihr Ausbreitungsverhalten im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ mit Beginn der P-Emissionen vor über 40 Jahren bis heute, 15 Jahre nach Einstellung der Produktion, erklären. Um die Ergebnisse der Analysen einordnen zu können, wurde als Referenz zu den beiden Gräsern die in Neubauversuchen eingesetzte Modellpflanze *Avena sativa* (= Hafer) im Versuch mit untersucht. Auch sollte das gleichzeitige Vorkommen von CaCO_3 im Untersuchungsgebiet in seiner Wirkung bewertet werden. Besonders interessant war dabei, ob CaCO_3 mögliche P-Stresseffekte abmildert. Dazu wurden Gefäßversuche mit sieben verschiedenen Boden-P-Gehalten (25, 50, 100, 140, 250 und 1000 mg P kg^{-1} BoTM als K_2HPO_4) auf Quarzsand in zwei Varianten durchgeführt. Die erste Variante des Versuchs wurde unter Abwesenheit von CaCO_3 durchgeführt und die zweite Variante wurde unabhängig vom P-Gehalt mit 6500 mg CaCO_3 kg^{-1} BoTM gedüngt. Beide Varianten verfügten zur Grundversorgung der Pflanzen mit Ca (160 mg kg^{-1} BoTM) über eine Grunddüngung mit CaSO_4 (Kapitel 2.3.1). Die Versuche liefen unter kontrollierten Bedingungen in Klimaschränken, um gezielt Umweltfaktoren auszuschalten, die in realen Ökosystemen die Effekte von P und CaCO_3 möglicherweise verzerren oder überdecken. Trockenstress wurde bewusst vermieden.

3.2.1. Auswirkungen unterschiedlicher P-Konzentrationen im Boden auf die Elementaufnahme untersuchter Gräser

Die Elementaufnahme wirkt direkt auf die Stoffwechselvorgänge von Pflanzen. Eine Veränderung des Angebotes kann somit eine mögliche Stressreaktion (Veränderung der Morphologie und der physiologischen Parameter) auslösen. Kenntnisse darüber, ob und wie die verschiedenen P-Konzentrationen ohne und mit 6500 mg CaCO_3 kg^{-1} BoTM die Elementaufnahme der drei Pflanzenspezies verändern, sollte deshalb der erste Schritt dieser Stressuntersuchungen sein.

Zu diesem Zweck wurden Spross- sowie Wurzelproben in der Mikrowelle unter Druck aufgeschlossen und die Elementgehalte in der ICP-OES bestimmt. Die Anzahl der bestimmten Elemente in der ICP-OES wurde durch eine Vorauswahl auf die Makroelemente Ca, K, Mg, Na und P sowie auf in der Literatur beschriebene vom P-Gehalt im Boden abhängige Elemente Fe, Mn, und Zn (Kapitel 1.3.3) begrenzt. Zur Überprüfung, ob Abweichungen zwischen den Mittelwerten der Elementkonzentrationen untersuchter Pflanzenspezies zufällig oder gesichert waren, wurden Mittelwertvergleiche durchgeführt (Einfaktorielle ANOVA, $P < 0,05$). Die Ergebnisse wurden ausführlich in Anlage 6, Anlage 7, Anlage 8 und Anlage 9 dargestellt. Die zwischen den Elementen berechneten Korrelationen stehen in Anlage 10.

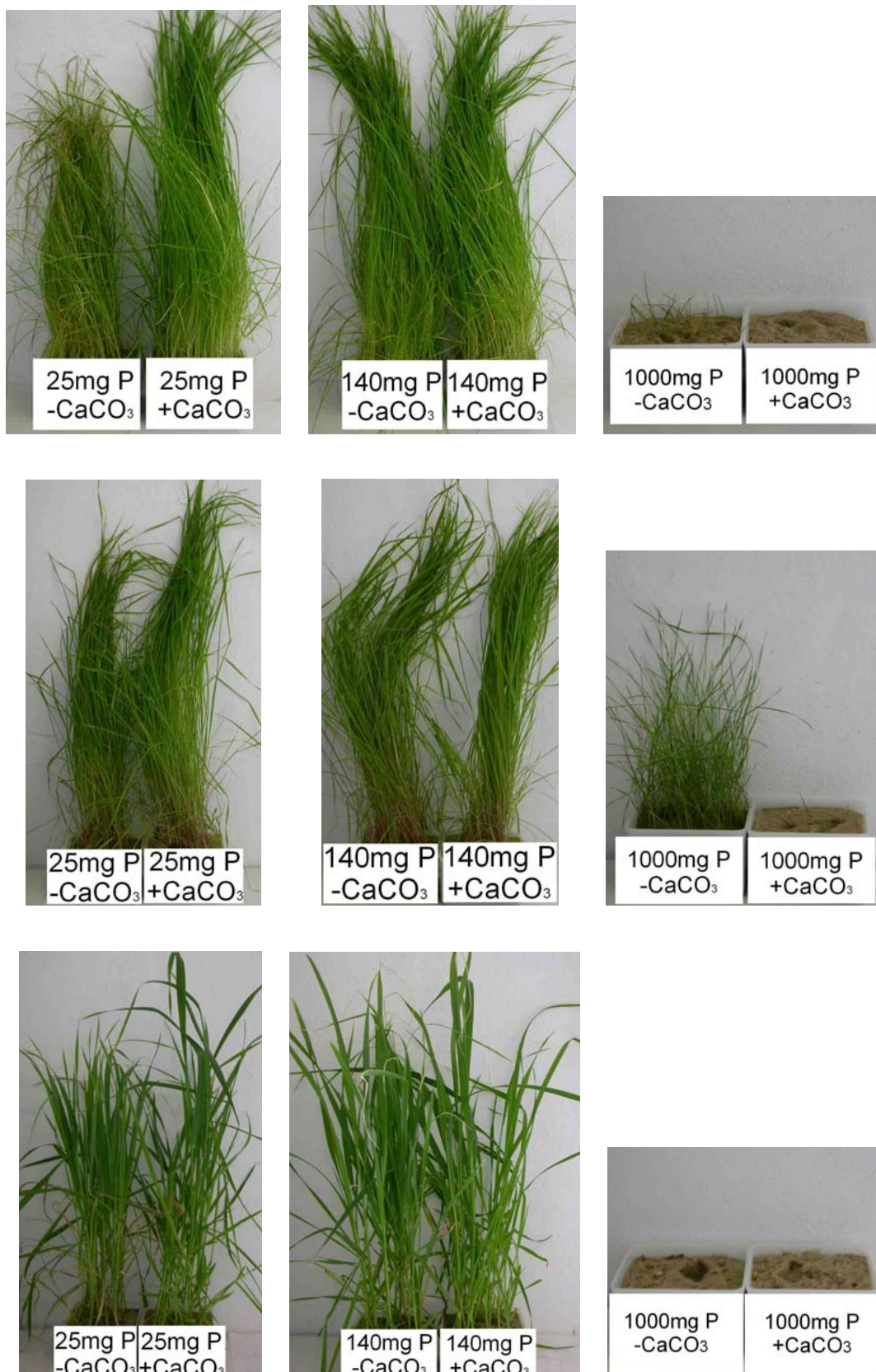


Abbildung 3.7: Gefäßversuch A – *Arrhenatherum elatius* Fotos oben, *Elymus repens* Fotos Mitte und *Avena sativa* Fotos unten mit unterschiedlicher Phosphordüngung unter Abwesenheit (-) und mit 6500 mg $\text{CaCO}_3 \text{ kg}^{-1}$ BoTM (+)

3.2.1.1. Elementgehalte in Spross- und Wurzelgeweben

P-Mangelernährung (25 mg P) bewirkte im Vergleich zum P-Optimum (140 mg P) in allen drei Pflanzenspezies für die Elemente Fe, K, Zn in Spross und Wurzel, Mg, Na in Spross sowie Ca in Wurzel keine Veränderung der jeweiligen Gehalte. Die Aufnahme dieser Elemente war trotz P-Mangel konstant in den Varianten ohne und mit CaCO₃-Zusatz (Tabelle 3.4). Eine verminderte Aufnahme wurde ohne CaCO₃ für Mn und P in Spross und Wurzel, für Ca in Spross und Mg bzw. Na in Wurzel aller drei Spezies konstatiert. Die Zugabe von CaCO₃ verhinderte dagegen die geringere Aufnahme von Mn in Spross und Wurzel, von Ca im Spross und von Mg und Na in der Wurzel. Die geringeren P-Gehalte blieben trotz CaCO₃ bestehen. Eine verstärkte Aufnahme konnte für keines der im Versuch gemessenen Elemente bei P-Mangel belegt werden (Tabelle 3.4).

Tabelle 3.4: *Gefäßversuch A* – Übersicht zur Aufnahme von Ca, Mg, P, K, Na, Fe, Mn und Zn in Spross- und Wurzelgewebe untersuchter Gräser bei P-Mangel und P-Überschuss im Boden unter Abwesenheit und mit CaCO₃ im Vergleich zum P-Optimum

Boden-P ¹⁾	Veränderung der Mineralelementkonzentration bei P-Mangel (25 ¹⁾) und P-Überschuss (500 ¹⁾) im Vergleich zum P-Optimum (140 ¹⁾)							
	ohne CaCO ₃				6500 mg CaCO ₃ ¹⁾			
	Spross		Wurzel		Spross		Wurzel	
	25	500	25	500	25	500	25	500
Ca	↓	↓	→	↑	→	↓	→	→
Mg	→	↓	↓	↑	→	↓	→	→
P	↓	↑	↓	↑	↓	→	↓	↑
K	→	↑	→	↑	→	↑	→	↑
Na	→	↑	↓	↓	→	↑	→	→
Fe	→	→	→	↓	→	→	→	↓
Mn	↓	↓	↓	↓	→	↓	→	→
Zn	→	↑	→	↓	→	→	→	→

Elementkonzentration unverändert →, Signifikante Abnahme ↓ bzw. Zunahme ↑; Ergebnisse zusammengefasst für *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und *Avena sativa* für mindestens zwei der drei Spezies signifikant (nach Einfaktorieller ANOVA, $P < 0,05$) und für die dritte Spezies im Trend. Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Spross-schieben. Für detaillierte Angaben zu den Mittelwertvergleichen siehe Anlage 6, Anlage 7, Anlage 8 und Anlage 9.

¹⁾ ... Dimension mg kg⁻¹ BoTM

P-Überschuss (ab 500 mg P) im Boden hatte einen wesentlich stärkeren Einfluss auf die untersuchten Gräser als P-Mangel (Tabelle 3.4, Tabelle 3.5). Einzig der Fe-Gehalt im Spross blieb in den drei Spezies konstant. Vermindert wurden Mn in Spross und Wurzel bzw. Fe und Zn in der Wurzel. Die Elemente K und P als Bestandteile des P-Salzes wurden mit verstärktem Angebot auch verstärkt in Spross und Wurzel aufgenommen (Tabelle 3.4). Die Elemente Ca bzw. Mg wurden mit steigendem P-Gehalt vom Spross in die Wurzel, Na bzw. Zn von der Wurzel in den Spross verlagert. Die Gesamtgehalte von Mg und Na blieben dabei konstant. Die Gesamtgehalte von Ca und Zn sanken dagegen ab.

Einen deutlichen Einfluss des CaCO₃-Zusatzes konnte bei P ermittelt werden, wo die höhere P-Aufnahme in den Spross trotz P-Überschuss im Boden durch CaCO₃ signifikant gehemmt wurde (Tabelle 3.5, Anlage 9). Im Vergleich zu den Pflanzen ohne CaCO₃ erhöhte CaCO₃ die Ca-Gehalte im

Spross auf die doppelte und in der Wurzel auf die siebenfache Menge. Die Mg-Gehalte in der Wurzel stiegen teilweise bis auf das Doppelte (Anlage 6 und Anlage 7 im Anhang). Die Fe-, Mn- und Zn-Gehalte der Gräser verringerten sich durch den CaCO_3 -Zusatz. Die Fe-Gehalte im Spross und die Mn-Gehalte in Spross und Wurzel sanken dabei insgesamt um rund die Hälfte (Tabelle 3.5, Anlage 6).

Tabelle 3.5: Gefäßversuch A – Mineralelementkonzentrationen im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* bei unterschiedlichen Boden-P-Gehalten¹⁾, ohne und mit 6500 mg CaCO_3 -Zusatz²⁾

Mineralelementkonzentration im Spross [µg g ⁻¹ Spross-TM]								
		<i>Arrhenatherum elatius</i>			<i>Elymus repens</i>			Referenzwerte
	CaCO ₃ ²⁾	25 ¹⁾	140 ¹⁾	500 ¹⁾	25 ¹⁾	140 ¹⁾	500 ¹⁾	
Ca	0	2216	2025	1103	2017	2913	1483	5000-10000 ³⁾
	6500	3569	3242	1130	4029	4029	1359	
Mg	0	5652	5080	3877	3159	4218	2833	2000-3000 ³⁾
	6500	5291	5299	3519	4180	5024	3413	
P	0	3391	6916	9322	4596	9692	9234	3500-6000 ³⁾
	6500	3579	6659	6897	3622	7486	8161	
K	0	32446	24673	52394	45112	37869	50703	45000-58000 ³⁾
	6500	35365	34365	66001	38154	38979	54946	
Na	0	89	67	109	160	120	122	40-2000 ³⁾
	6500	101	68	153	127	123	141	
Fe	0	430	525	718	550	434	497	50-800 ⁴⁾
	6500	212	342	406	225	218	226	
Mn	0	98	136	109	69	115	144	40-100 ³⁾
	6500	93	97	47	87	88	73	
Zn	0	39	31	46	39	52	76	25-70 ³⁾
	6500	40	33	37	59	75	69	

Die Ca-Grundversorgung war 160 mg Ca kg^{-1} BoTM als CaSO_4 . Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprosssschieben.

¹⁾ ... Dimension der Boden-P-Gehalte mg kg^{-1} BoTM

²⁾ ... Dimension des CaCO_3 -Zusatzes mg kg^{-1} BoTM

³⁾ ... Sprossgehalte von *Avena sativa* nach Bestockung zu Beginn des Sprosssschiebens aus Bergmann (1992)

⁴⁾ ... Fe-Gehalte grüner Pflanzenteile 50-200 $\mu\text{g g}^{-1}$ PFTM; Gräser ferrophil, bis 800 $\mu\text{g g}^{-1}$ PFTM möglich (Bergmann, 1992)

Bei den Berechnungen der Korrelationen ergaben sich für einige der Elementkombinationen signifikante Abhängigkeiten. So bestanden in allen drei untersuchten Spezies zwischen den Makroelementen Ca und Mg, K und P sowie den Mikroelementen Mn und Zn in Spross und zum Teil in Wurzel ohne und mit CaCO_3 -Zusatz mittel- bis streng-positive Korrelationen (Anlage 10). In der Wurzel korrelierten zusätzlich Ca und K, Ca und P und Mg und P unter Abwesenheit von CaCO_3 mittel- bis streng-positiv in allen drei Spezies. Unter Zugabe von CaCO_3 korrelierte in *Arrhenatherum elatius* und *Avena sativa*, aber nicht in *Elymus repens*, Fe in der Wurzel mittel- bis streng-negativ mit K bzw. P und mittel- bis streng positiv mit Mn (Anlage 10).

3.2.1.2. Ausnutzung des Elementangebots im Bodensubstrat

Die Verfügbarkeit der untersuchten Elemente bei optimaler P-Versorgung (Tabelle 3.6) war, gemessen an der Sprossaufnahme in Prozent zum Bodengehalt, relativ hoch.

Der Vergleich der Elementgehalte bei optimaler P-Versorgung ($140 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$) mit Referenzwerten in Tabelle 3.5 zeigte eine ausreichende Versorgung der drei Spezies mit Mg, P, Fe, Mn und Zn. Die Ca-Gehalte waren dagegen gering bei gleichzeitig höheren Mg- und P-Gehalten. Die K-Gehalte im P-Optimum (Tabelle 3.5) schienen für die Pflanzen trotz Abweichung zur Referenz noch normal, denn die über gekoppelte Na/K-Transporter in Wechselwirkung mit der K-Aufnahme stehende Na-Aufnahme (Puhl, 2007) war gering (Tabelle 3.6).

Tabelle 3.6: Gefäßversuch A – Mineralelementtransfer in die oberirdische Biomasse von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* bei 25, 140 und 500 $\text{mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$ und Elementgehalt des Bodens

unter- suchte Parameter	Element- gehalt im Boden ¹⁾ [mg kg^{-1}]	Mineralelemententzug [mg dm^{-2}]					
		<i>Arrhenatherum elatius</i>			<i>Elymus repens</i>		
		25	140	500	25	140	500
Ca	160	7,6	8,4	1,9	5,4	9,8	3,7
Mg	160	19,3	21,1	6,8	8,4	14,2	7,1
P	25/140/500	11,6	28,8	16,4	12,2	32,6	23,2
K	350/350/1300	110,9	102,6	92,4	120,2	127,6	127,4
Na	1210	0,31	0,28	0,19	0,43	0,40	0,31
Fe	2,4	1,5	2,2	1,3	1,5	1,5	1,3
Mn	0,6	0,34	0,57	0,19	0,19	0,39	0,36
Zn	1,0	0,13	0,13	0,08	0,11	0,18	0,19
Boden-pH	6,6	4,1	4,7	6,4	4,2	5,6	6,4

Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben. Die Tabelle wurden berechnet und zusammengestellt aus Daten ohne CaCO_3 der Anlage 6, Anlage 7, Anlage 8, Anlage 9 und Anlage 12 im Anhang.

¹⁾ ... Die Bodenelementgehalte nach Königswasseraufschluss beziehen sich auf die Trockenmasse.

Die Aufnahmeraten bei optimaler P-Versorgung in den Spross (Tabelle 3.6) waren bei allen drei Spezies geringer für Ca und Zn <20 %, mittel für K, Mg, P mit 20-40 % und hoch bis 100 % für Fe und Mn. Bei P-Mangel stieg die P-Aufnahme im Spross im Vergleich zum Angebot an. Bei der geringsten P-Konzentration (25 mg P) stieg sie auf ca. 80 % und zusammen mit den Wurzelgehalten auf 100 % der dem Sandsubstrat zugegebenen P-Menge (Tabelle 3.6). Der Mn-Gehalt halbierte sich bei P-Mangel. Bei P-Überschuss (ab 250 mg P) ging der Elemententzug aus dem Bodensubstrat mit der abnehmenden Gesamtbiomasse generell zurück. Ausnahmen waren die Elemente P und K, bei denen bei leichtem P-Überschuss (250 mg P) die Totalgehalte noch erhöht wurden.

3.2.1.3. Verhältnis der Elementkonzentrationen im Spross unter differenziertem P-Angebot

Neben der Elementkonzentration in Spross und Wurzel der drei untersuchten Pflanzenspezies (Tabelle 3.6) wurden auch ausgewählte Elementproportionen (Konzentrationsverhältnisse) im Spross näher betrachtet (Tabelle 3.7). Von besonderem Interesse waren dabei die Relationen von P zu den möglicherweise beeinflussten Mikronährstoffen Fe, Mn und Zn sowie der Einfluss von Ca in der CaCO₃-Variante.

Tabelle 3.7: Gefäßversuch A – Physiologisch bedeutsame Elementverhältnisse im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* bei P-Mangel, P-Optimum und P-Überschuss (25, 140 und 500 mg P kg⁻¹ BoTM) in *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* ohne und mit 6500 mg CaCO₃

Verhältnis	CaCO ₃ [mg kg ⁻¹ BoTM]	Mineralelementverhältnisse						Schwankungsbereich der Referenzwerte ¹⁾
		<i>Arrhenatherum elatius</i>			<i>Elymus repens</i>			
		25	140	500	25	140	500	
Ca/Mg	0	1:3	1:3	1:4	1:2	1:1	1:2	1:0,2 – 1:0,6
	6500	1:1	1:2	1:3	1:1	1:1	1:3	
Ca/P	0	1:2	1:3	1:8	1:2	1:3	1:10	1:0,35 – 1:1,2
	6500	1:1	1:2	1:6	1:1	1:2	1:6	
K/P	0	1:0,1	1:0,1	1:0,2	1:0,1	1:0,3	1:0,2	1:0,06 – 1:0,13
	6500	1:0,1	1:0,2	1:0,1	1:0,1	1:0,2	1:0,1	
Fe/P	0	1:10	1:10	1:10	1:10	1:20	1:20	1:4 – 1:120
	6500	1:20	1:20	1:20	1:20	1:30	1:40	
Mn/P	0	1:40	1:50	1:90	1:70	1:80	1:60	1:35 – 1:150
	6500	1:40	1:70	1:150	1:40	1:90	1:110	
Zn/P	0	1:90	1:220	1:660	1:120	1:190	1:120	1:5 – 1:240
	6500	1:90	1:200	1:190	1:60	1:100	1:120	

Die Elementverhältnisse wurden mit Daten aus Anlage 6, Anlage 7, Anlage 8 und Anlage 9 berechnet. Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprosschieben. Die Ca-Grundversorgung war 160 mg Ca kg⁻¹ BoTM als CaSO₄.

¹⁾ ... Die Referenzwerte sind in Tabelle 3.5 aufgeführt.

Durch P-Mangel (25 mg P kg⁻¹ BoTM) und P-Überschuss (500 mg P) wurden gemäß Tabelle 3.7 Elementverhältnisse verschoben, z.B. das Ca/P-, Mn/P- und Zn/P-Verhältnis zeigten, dass bei P-Mangel im Vergleich zum P-Optimum (140 mg P) der Ca-, Mn- und Zn-Anteil deutlich anstiegen und bei P-Überschuss absanken. Das Fe/P-Verhältnis war im Spross von *Arrhenatherum elatius* am Engsten und trotz differenziertem P-Angebot absolut konstant (Tabelle 3.7). Im Spross von *Elymus repens* erhöhte sich der Fe-Anteil nur bei P-Mangel, bei P-Überschuss blieb er ebenfalls konstant.

Durch CaCO₃-Zusatz sanken die Fe-, Mn- und Zn-Anteile im Bezug auf den P-Gehalt häufig um das Doppelte (Tabelle 3.7). Solche Elementbalanceverteilungen haben enorme Auswirkungen auf Pflanzenwuchs, Phytoremediationseffizienzen und mikrobiologische Populationsdynamik.

3.2.2. Auswirkung auf die morphologischen Parameter und das Spross/Wurzel-Verhältnis

Ein wichtiges Maß für die Entwicklung eines Organismus ist die Biomasseproduktion. Positive aber auch negative Einflüsse wie Stress können die Biomasse im Rahmen der genetischen Varianz beeinflussen. Für eine detaillierte Analyse zur Wirkung der sieben Boden-P-Gehalte und CaCO_3 auf die Biomassen von *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und *Avena sativa* wurden Mittelwert-vergleiche durchgeführt (Einfaktorielle ANOVA, $P < 0,05$). Die Ergebnisse wurden vereinfacht für Spross in Tabelle 3.8 und ausführlich für Spross und Wurzel mit Angabe von Mittelwert und Standardabweichung in Anlage 11 im Anhang dargestellt.

Die größte Wirkung auf die Spross- und Wurzelmassen konnte bei allen drei Gräsern mit dem höchsten Boden-P-Gehalt (1000 mg) unter Abwesenheit von CaCO_3 im Vergleich zu den P-Optima (140 mg) ermittelt werden (Tabelle 3.8, Anlage 11). Besonders gering war hier das Wachstum der Pflanzen von *Arrhenatherum elatius* und *Avena sativa*, die in ihrer Entwicklung gehemmt wurden und zur Ernte zum Teil fast abgestorben waren. Die Pflanzen von *Elymus repens* kamen sichtbar besser mit der höchsten P-Konzentration zurecht (Abbildung 3.7).

Tabelle 3.8: Gefäßversuch A – Änderung der Trockenmasse im Spross von *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und *Avena sativa* bei unterschiedlichen P-Gehalten im Boden ohne und mit 6500 mg CaCO_3 -Zusatz

P-Gehalt ¹⁾	Trockenmasse [g dm ⁻²]						
	25	50	100	140	250	500	1000
ohne CaCO_3							
<i>Arrhenatherum elatius</i>	3,4 ^c	3,9 ^c	3,8 ^c	4,2 ^c	4,0 ^c	1,8 ^b	0,3 ^a
<i>Elymus repens</i>	2,7 ^b	3,0 ^c	3,3 ^c	3,4 ^c	3,3 ^c	2,5 ^b	0,8 ^a
<i>Avena sativa</i>	3,5 ^b	3,7 ^b	4,4 ^b	4,4 ^b	3,8 ^b	0,5 ^a	n.b.
6500 mg CaCO_3 ¹⁾							
<i>Arrhenatherum elatius</i>	3,4 ^c	3,2 ^c	3,3 ^c	3,4 ^c	3,0 ^c	1,0 ^b	0,1 ^a
<i>Elymus repens</i>	2,9 ^c	2,7 ^c	2,9 ^c	3,1 ^c	3,2 ^c	2,1 ^b	0,1 ^a
<i>Avena sativa</i>	4,3 ^b	4,7 ^b	4,2 ^b	4,6 ^b	3,8 ^b	0,4 ^a	0,1 ^a

Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben. Die Ca-Grundversorgung war 160 mg Ca kg⁻¹ BoTM als CaSO_4 . Unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikant-unterschiedliche Mittelwerte ($a < b < c$; $P < 0,05$) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test). Die der Tabelle zugrunde liegenden Mittelwerte \pm Standardabweichung sind in Anlage 11 im Anhang aufgeführt. n.b. ... nicht bestimmt (zu geringes oder kein Wachstum)

¹⁾ ... Angaben bezogen auf mg kg⁻¹ BoTM

Dass neben P-Überschuss auch der Mangel an P das Wachstum negativ beeinflusst, zeigten im Trend die Spross- und Wurzelmassen aller drei untersuchten Gräser (Tabelle 3.8, Anlage 11). Bei den Sprossmassen von *Elymus repens* war der Rückgang unter Abwesenheit von CaCO_3 statistisch signifikant (Einfaktorielle ANOVA, $P < 0,05$). Die Abnahme der Biomassen von P-Optimum zu P-Mangel fiel generell geringer aus als von P-Optimum zu P-Überschuss (Tabelle 3.8). Dies wiederum lässt darauf schließen, dass die untersuchten Spezies grundsätzlich besser mit P-Mangel im Boden zurechtkamen als mit P-Überschuss. Die an das P-Optimum angrenzenden Boden-P-Gehalte (100 u. 250 mg) wiesen unter Abwesenheit von CaCO_3 kaum Unterschiede in den Spross- bzw. Wurzelmassen der

Spezies auf (Tabelle 3.8). Insgesamt betrachtet stellt der Biomasseanstieg vom kleinsten Boden-P-Gehalt (25mg) zum P-Optimum und der anschließende Abfall bis zum höchsten Boden-P-Gehalt (1000 mg) eine Optimumskurve, eine Dosis-Wirkungs-Beziehung dar (Abbildung 3.8, Tabelle 3.8).

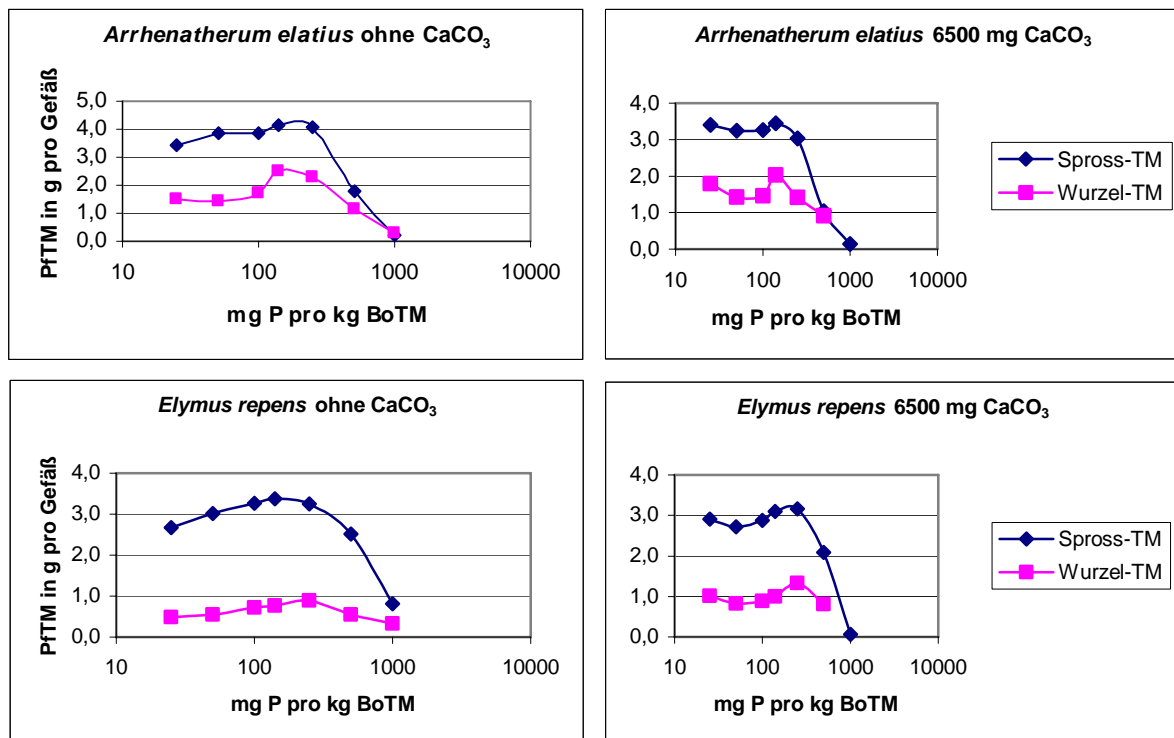


Abbildung 3.8: Gefäßversuch A – Spross- und Wurzeltrockenmassen von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* pro Gefäß (1 dm²) bei 25, 50, 100, 140, 250, und 1000 mg P kg⁻¹ BoTM ohne und mit CaCO₃-Zusatz

Wurden die Pflanzen zusätzlich mit CaCO₃ behandelt, entwickelten sich die Pflanzen unter der gleichen P-Düngung überwiegend ganz anders (Tabelle 3.8, Abbildung 3.8). Für alle drei Spezies gab es keine Mittelwertunterschiede der Sprossmassen in dem Bereich zwischen 25 – 250 mg P (Einfaktorielle ANOVA, $P < 0,05$) mehr. Wogegen bei den höchsten Boden-P-Gehalten 500 und 1000 mg mit CaCO₃-Zusatz der Rückgang der Sprossmassen noch einmal stärker war als ohne CaCO₃ oder die Pflanzen keimten im Boden mit dem höchsten P-Gehalt gar nicht aus (Abbildung 3.7, Tabelle 3.8). Die Wurzelmassen blieben nach CaCO₃-Zusatz bei *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* in dem Bereich von 25 – 500 mg P konstant, bei *Avena sativa* fielen sie ab 500 mg P stark ab. Generell muss zur Umkehr (Verschlechterung des Wachstums) des Effektes von CaCO₃ ab 500 mg P kg⁻¹ BoTM bemerkt werden, dass diese hier getesteten hohen Substrat-P-Konzentrationen für den Belastungsstandort „Steudnitz“ nicht relevant sind (dort 200-300 mg P kg⁻¹ BoTM verfügbar).

Die untersuchten Pflanzenspezies unterschieden sich auch generell in ihren Biomassen. Bei optimaler P-Versorgung (140 mg P kg⁻¹ BoTM) konnte so eine Reihenfolge für Spross *A.s.* > *A.e.* > *E.r.* und für Wurzel *A.e.* > *A.s.* > *E.r.* aufgestellt werden. Die Sprossmassen waren dabei jeweils deutlich höher als die Wurzelmassen (Tabelle 3.8, Anlage 11).

Um einen Vergleich der Spezies durchführen zu können, wurden die Spross/Wurzel-Verhältnisse (Tabelle 3.9) berechnet. So konnte deutlich nachgewiesen werden, dass *Elymus repens* unter Abwesenheit von CaCO_3 deutlich weniger Wurzelmasse pro Sprosseinheit bildete als *Arrhenatherum elatius*. Die Referenzpflanze *Avena sativa* lag bei allen P-Konzentrationen zwischen den beiden anderen Spezies (nicht gezeigt). Darüber hinaus zeigte sich, dass das Spross/Wurzelverhältnis unter Abwesenheit von CaCO_3 zwischen 50 und 1000 mg P kg^{-1} BoTM umso größer war, je geringer die P-Konzentration. Erst bei der geringsten P-Konzentration im Versuch von 25 mg P kg^{-1} BoTM nahm die Wurzelmasse im Vergleich zur Sprossmasse wieder zu.

Tabelle 3.9: Gefäßversuch A - Spross/Wurzel-Verhältnisse der Trockenmassen

P-Gehalt ¹⁾	Spross/Wurzel-Verhältnis						
	25	50	100	140	250	500	1000
	ohne CaCO_3						
<i>Arrhenatherum elatius</i>	2,3	2,7	2,2	1,7	1,7	1,5	0,8
<i>Elymus repens</i>	5,5	5,5	4,6	4,4	3,7	4,5	2,4
	6500 mg CaCO_3 ¹⁾						
<i>Arrhenatherum elatius</i>	1,9	2,3	2,2	1,7	2,1	1,1	n.b.
<i>Elymus repens</i>	2,9	3,3	3,2	3,1	2,4	2,6	n.b.

Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben. Die Ca-Grundversorgung war 160 mg Ca kg^{-1} BoTM als CaSO_4 . Die der Tabelle zugrunde liegenden Mittelwerte \pm Standardabweichung sind in Anlage 11 im Anhang aufgeführt. n.b. ... nicht bestimmt (zu geringes oder kein Wachstum)

¹⁾ ... Angaben bezogen auf mg kg^{-1} BoTM

Die Zugabe von CaCO_3 lies die Unterschiede im Spross/Wurzelverhältnis in allen P-Stufen zwischen den Spezies kleiner werden (Tabelle 3.9). Der stärkste Rückgang konnte bei *Elymus repens* durch Verdopplung der Wurzelmassen bei im Durchschnitt leicht geringeren Sprossmassen ermittelt werden. Auf *Arrhenatherum elatius* hatte der CaCO_3 -Zusatz nur eine geringe Wirkung. *Avena sativa* lag in seinen Spross/Wurzelverhältnissen wieder zwischen *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* (nicht gezeigt). Insgesamt zeigten sich die Spross/Wurzelverhältnisse zwischen den P-Stufen im Boden durch die Zugabe von CaCO_3 ausgeglichener, denn sowohl die Spross- als auch die Wurzelmassen näherten sich mit CaCO_3 innerhalb der Pflanzenspezies einander an (Tabelle 3.8, Anlage 11).

3.2.3. Veränderungen am Photosyntheseapparat der Pflanzen bestimmt als effektive und maximale Quantenausbeute (Chlorophyll-Fluoreszenz)

Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen wurden durchgeführt, da sie sehr gut geeignet sind zur Analyse von Stresseffekten auf den Photosyntheseapparat. Die Messung mit Einsatz des PAM-2000 ist unkompliziert und führt schnell zu verwertbaren Ergebnissen. Bei P-Stress (als P-Mangel oder P-Überschuss) die Chlorophyll-Fluoreszenz-Messung am Photosystem II (PS II) durchzuführen erschien sinnvoll, da bekannt ist (Kapitel 1.2), dass P über P-abhängige Transporter und insbesondere durch das P-abhängige Enzym ADP-Glucose-Pyrophosphorylase direkt Einfluss auf die Stärkesynthese in den Chloroplasten nimmt und auch entgegengesetzt die Photosyntheserate beeinflusst. Wie stark der

Einfluss variierender P-Gehalte im Boden auf die Photosyntheserate betroffener Gräser sein kann, sollte nun anschließend mit der Chlorophyll-Fluoreszenz-Messung untersucht werden.

Die Messungen von effektiver Quantenausbeute (eQAB) und maximaler Quantenausbeute (mQAB) an den Gräsern *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und *Avena sativa* brachten für die gewählten Boden-P-Gehalte nach Mittelwertvergleich (Anlage 12 im Anhang) nur für die mQAB bei *Elymus repens* in den Gruppen mit CaCO_3 -Zusatz signifikante Unterschiede der Mittelwerte (Einfaktorieller ANOVA, $P < 0,05$). Als Ursachen für die sonst fehlende Signifikanz kommen sowohl die relative Ausgeglichenheit der Messwerte in den P-Stufen zueinander, aber auch eine stärkere Streuung der Messwerte in Betracht. Nachfolgend werden deshalb nur die auffälligsten Trends zwischen den Gruppen beschrieben. Ferner konnten bei der höchsten P-Konzentration ($1000 \text{ mg kg}^{-1} \text{ BoTM}$) nur bei *Elymus repens* ohne CaCO_3 Messungen mit dem PAM-2000 erfolgen. Ausbleibende Keimung bzw. mangelnde Entwicklung der Blätter verhinderten die Messungen der anderen Gruppen bei 1000 mg P . Generell war bei allen drei Gräsern festzustellen, dass die eQAB in jedem Fall immer kleiner war als die mQAB (Abbildung 3.9).

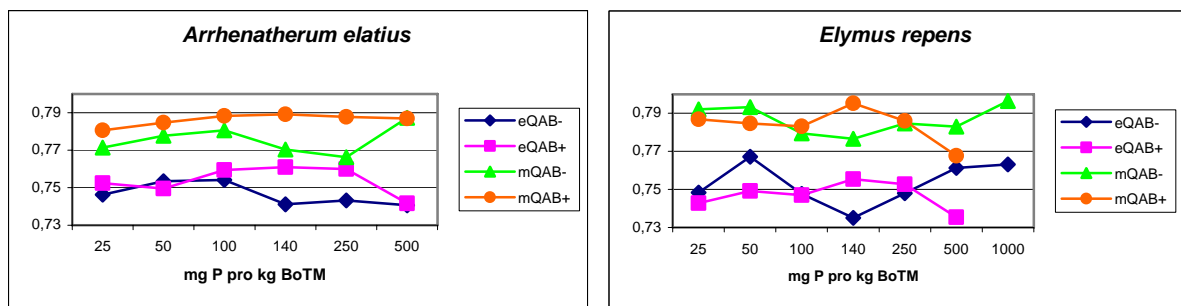


Abbildung 3.9: Gefäßversuch A – effektive (eQAB) und maximale Quantenausbeute (mQAB) von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* bei unterschiedlicher Phosphordüngung ohne CaCO_3 (-) und mit 6500 mg CaCO_3 (+)

Die Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen zeigten im Trend für *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* unter Abwesenheit von CaCO_3 bei P-Mangel ($\leq 100 \text{ mg}$) erst eine Zunahme und bei stärkerer Abweichung vom P-Optimum eine Abnahme von eQAB bzw. mQAB. Jedoch unterschieden sich die zwei Parameter bei beiden Gräsern in der Intensität ihrer Abnahme. Während die mQAB auf das Niveau des P-Optimums zurückfiel, sank die eQAB bei P-Mangel noch darunter (Abbildung 3.9). Bei P-Überschuss ($\geq 250 \text{ mg}$) stiegen eQAB bzw. mQAB an (Erklärung als Eu-Stress siehe Diskussion). Die P-Konzentration, bei der beide Parameter absanken, wurde bei beiden Gräsern ohne CaCO_3 -Zusatz nicht erfasst (Abbildung 3.9).

Durch den Zusatz von CaCO_3 gab es keine positiv wirkenden Eu-Stress-Effekte, die Leistung des Photosyntheseapparates (eQAB und mQAB) sank sofort nach Abweichung vom P-Optimum in beide Richtungen ab. Für *Arrhenatherum elatius* wurde auch eine generelle Wirkung des CaCO_3 -Zusatzes festgestellt. Im Vergleich zu den Messungen ohne Zusatz erhöhte sich in *Arrhenatherum elatius* sowohl die eQAB als auch die mQAB (Abbildung 3.9). In *Elymus repens* und *Avena sativa* hatte CaCO_3 diesen Effekt nicht.

Avena sativa war unabhängig vom CaCO_3 deutlich unempfindlicher gegenüber Veränderungen am Photosyntheseapparat und zeigte kaum Veränderungen zwischen den verschiedenen Boden-P-Gehalten (≤ 250 mg), ab einem P-Überschuss von 500 mg fiel die Photosyntheserate deutlich ab (siehe Anhang Anlage 12).

3.2.4. Veränderung des freien Prolingehaltes – eine Stressantwort der Pflanzen

Neben den biophysikalischen Untersuchungen schien es ebenso notwendig, die Wirkung von P-Stress auf der biochemischen Ebene zu untersuchen. Die *freie* Aminosäure Prolin wurde dabei als ein Stressindikator untersucht. Sie ist für ihre Sensitivität gegenüber osmotisch wirksamen Stressoren z.B. Salz- oder Trockenstress bekannt (Kapitel 1.3.4). Die Untersuchung des *freien* Prolins im Zusammenhang mit P-Stress wurde in der Literatur noch nicht beschrieben, jedoch lag es nahe dies gerade hier zu tun. Proteingebundenes Prolin blieb in den Untersuchungen unberücksichtigt.

Die Bestimmung der *freien* Aminosäure Prolin mit dem modifizierten Verfahren nach Bates *et al.* (1973) zeigte, dass P-Exzess (500-1000 mg P kg^{-1} BoTM) einen sehr starken Anstieg der Prolingehalte unabhängig von artspezifischen Unterschieden verursachte (siehe Anlage 11 im Anhang). Dieser starke Anstieg verhinderte einhergehend mit hohen Varianzen die Berechnung der Ergebnisse im Mittelwertvergleich der Einfaktoriellen ANOVA. Erst die Transformation der Einzeldaten in ihren Logarithmus (log) verringerte die Abstände zwischen den Mittelwerten der sieben P-Konzentrationen (Abbildung 3.10) soweit, dass eine Berechnung der Mittelwertunterschiede für $P < 0,05$ möglich wurde (siehe Tabelle 3.10 und Anlage 11 im Anhang).

Tabelle 3.10: Gefäßversuch A – Konzentrationen freien Prolins im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens*

P-Gehalt ¹⁾	Prolinkonzentration [$\mu\text{mol g}^{-1}$ Spross-TM]						
	25	50	100	140	250	500	1000
	ohne CaCO_3						
<i>Arrhenatherum elatius</i>	15,4 ^b	8,2 ^a	7,6 ^a	4,4 ^a	4,1 ^a	18,7 ^b	120,9 ^c
<i>Elymus repens</i>	6,1 ^a	5,0 ^a	3,8 ^a	4,7 ^{a2)}	3,7 ^a	10,1 ^b	14,7 ^b
	6500 mg CaCO_3 ¹⁾						
<i>Arrhenatherum elatius</i>	4,0 ^a	3,5 ^a	4,2 ^a	4,2 ^a	5,0 ^a	31,6 ^b	160,9 ^c
<i>Elymus repens</i>	2,8 ^a	2,8 ^a	2,9 ^a	2,9 ^a	3,1 ^a	5,5 ^b	82,7 ^c

Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprosssschieben. Die Ca-Grundversorgung war 160 mg Ca kg^{-1} BoTM als CaSO_4 . Unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikant-unterschiedliche Mittelwerte ($a < b < c$; $P < 0,05$) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test). Die der Tabelle zugrunde liegenden Mittelwerte \pm Standardabweichung sind in Anlage 11 im Anhang aufgeführt.

¹⁾ ... Angaben bezogen auf mg kg^{-1} BoTM

²⁾ ... Korrigierter Wert 4,7 (ohne Probe 2) statt 7,1 nach Ausreißertest (siehe Abbildung 3.10) angegeben

Die im Gefäßversuch A bestimmten Prolingehalte unter Abwesenheit von CaCO_3 ergaben mit zunehmender Abweichung vom P-Optimum, d.h. bei P-Mangel und mehr noch bei P-Überschuss, einen speziesunabhängigen Prolinanstieg in Spross und Wurzel (Abbildung 3.10, Anlage 11). Damit wurde auf biochemischer Ebene nachgewiesen, dass sowohl P-Mangel als auch P-Exzess als Stressfaktoren wirken. Die höchsten Gehalte an *freiem* Prolin wurden in *Arrhenatherum elatius*

gemessen (Tabelle 3.10, Anlage 11). Bei P-Mangelvariante (25 mg P kg⁻¹ BoTM) stieg der Prolingehalt in Spross und Wurzel um rund das Dreifache auf ca. 300 % im Vergleich zum P-Optimum (100 %) an. Bei P-Exzess (1000 mg P) lag das *freie* Prolin mit 2800 % im Spross (Tabelle 3.10) und 1400 % in Wurzel noch wesentlich höher. Diese Ergebnisse zeigen, dass *Arrhenatherum elatius* bei guter N-Versorgung im *freien* Prolingehalt gegenüber beiden Varianten des P-Stress anfällig ist und damit als Indikatorpflanze im Monitoring für P-gestresste Standorte geeignet wäre. In *Elymus repens* verursachte P-Stress ebenfalls einen Prolinanstieg (Abbildung 3.10). Im Spross wurden Steigerungen bei P-Mangel (25 mg P) auf 130 % und bei sehr hohem P-Überschuss (1000 mg P) auf 320 % gemessen. Damit waren die Veränderungen (die Stressantwort) relativ und absolut im Vergleich zu *Arrhenatherum elatius* deutlich geringer (Tabelle 3.10, Anlage 11). *Elymus repens* als tolerantere Spezies wäre somit nur eingeschränkt als Indikatorpflanze nutzbar. Für Sanierungs- und Phytoremediationsvorhaben P-belasteter Standorte ist *Elymus repens* dagegen zu bevorzugen. In *Avena sativa* unterschieden sich die Gehalte an *freiem* Prolin unter Abwesenheit von CaCO₃ nur wenig (Tabelle 3.10, Anlage 11). Erst ab einem P-Überschuss von 500 mg P erhöhte sich der Prolingehalt vom P-Optimum in Spross und Wurzel signifikant (800 %) ab.

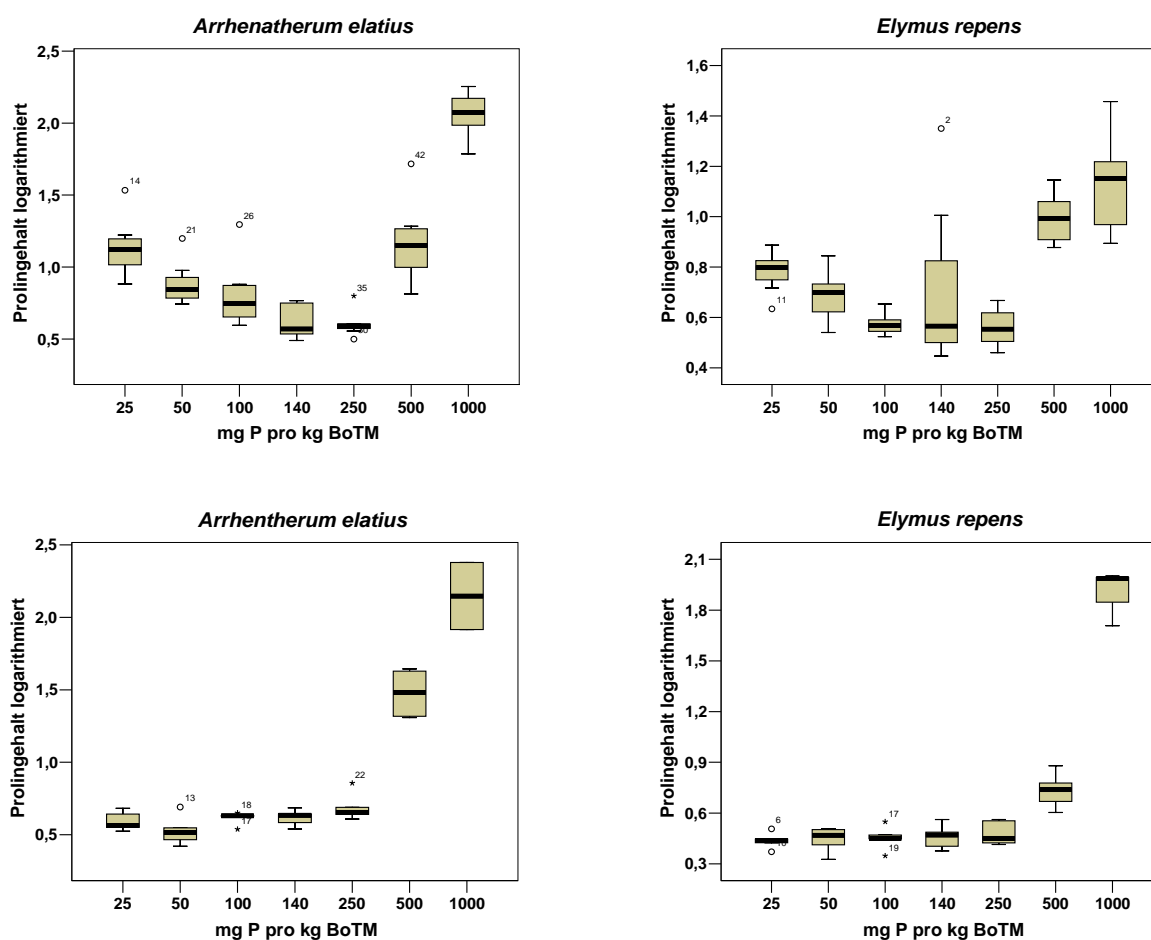


Abbildung 3.10: Gefäßversuch A - Sprossgehalte von *freiem* Prolin in *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* bei steigendem Boden-P-Gehalt: oben ohne CaCO₃, unten mit 6500 mg CaCO₃ kg⁻¹ BoTM

Mit CaCO_3 -Zusatz verschwanden bei P-Konzentrationen von 25-250 mg P in allen Pflanzenspezies die signifikanten Unterschiede in den Spross- und Wurzelprolingehalten (Tabelle 3.10, Anlage 11). Dabei beeinflusste das CaCO_3 im Sandsubstrat die *freien* Prolingehalte (Stressantwort) zwischen 25-250 mg P derart, dass sie meist noch unter den P-Optima ohne CaCO_3 lagen (Abbildung 3.10, Tabelle 3.10). Diese Stressreduktion lag im absoluten Gegensatz zu den *freien* Prolingehalten bei P-Exzess. Denn bei hohen Boden-P-Gehalten von 500 und 1000 mg (*Arrhenatherum elatius* und *Avena sativa*) bzw. von 1000 mg P (*Elymus repens*) stiegen die *freien* Prolingehalte mit CaCO_3 -Zusatz noch höher als unter Abwesenheit von CaCO_3 (Tabelle 3.10, Anlage 11). Der Zusatz an CaCO_3 erhöhte somit zusätzlich den *freien* Prolingehalt in den Versuchsgräsern bei sehr hoher P-Verfügbarkeit im Boden. Für den Belastungsstandort „Steudnitz“ sind Substrat-P-Konzentrationen in dieser Höhe jedoch nicht relevant (dort 200-300 mg P kg^{-1} BoTM verfügbar).

Anhand der *freien* Prolingehalte ergab sich letztlich auch eine Rangliste der untersuchten Gräser für Spross: *A.e.* = *A.s.* > *E.r.* und für Wurzel *A.e.* = *E.r.* > *A.s.* (Anlage 11 im Anhang). Die Sprossgehalte unterschieden sich dabei mit rund dem Dreifachen des Prolingehaltes von denen der Wurzel.

3.2.5. Veränderungen des löslichen Proteingehaltes

Die Bestimmung der löslichen Proteingehalte mit der bewährte Bradford-Methode (Kapitel 2.4.5) war notwendige Voraussetzung für den Nachweis der Superoxid-Dismutasen (SOD). Als Stressindikator ist der lösliche Proteingehalt jedoch weniger geeignet, da Wachstumshemmungen in den Pflanzen Aufkonzentrationen des löslichen Proteins bewirken können, die dann letztlich zu Verzehrrungen führen. In Begleitung des Versuches wurden folgende Ergebnisse festgestellt.

P-Mangel (<100 mg) verringerte im Trend bei allen Versuchsgräsern den löslichen Proteingehalt im Spross, (Tabelle 3.11, Anlage 13). Bei hohem P-Überschuss von 500 mg (*Arrhenatherum elatius*) und 1000 mg (*Elymus repens*) stieg der lösliche Proteingehalt stark an (Aufkonzentration). Bei einem P-Überschuss von 1000 mg fielen die Proteingehalte im Spross von *Arrhenatherum elatius* vermutlich aufgrund zu starker Störung ab (Tabelle 3.11).

Tabelle 3.11: Gefäßversuch A – Lösliches Sprossprotein nach Bradford (1976) von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* bei unterschiedlicher Phosphordüngung ohne und mit 6500 mg kg^{-1} BoTM CaCO_3 -Zusatz

P-Gehalt ¹⁾	Löslicher Proteingehalt [mg g^{-1} Spross-TM]						
	25	50	100	140	250	500	1000
ohne CaCO_3							
<i>Arrhenatherum elatius</i>	31,0 ^{abc}	29,4 ^{abc}	28,7 ^{ab}	38,4 ^c	32,8 ^{abc}	36,2 ^{bc}	25,9 ^a
<i>Elymus repens</i>	19,2 ^a	19,5 ^a	26,1 ^a	23,6 ^a	25,6 ^a	22,2 ^a	39,3 ^b
6500 mg CaCO_3 ¹⁾							
<i>Arrhenatherum elatius</i>	40,1 ^{ab}	33,2 ^a	39,8 ^{ab}	34,7 ^a	39,1 ^{ab}	45,6 ^b	n.b.
<i>Elymus repens</i>	20,8 ^a	24,8 ^a	23,9 ^a	20,2 ^a	24,2 ^a	32,7 ^b	n.b.

Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben. Die Ca-Grundversorgung war 160 mg Ca kg^{-1} BoTM als CaSO_4 . Unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikant-unterschiedliche Mittelwerte ($a < b < c$; $P < 0,05$) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test). Die der Tabelle zugrunde liegenden Mittelwerte \pm Standardabweichung sind in Anlage 13 im Anhang aufgeführt. n.b. ... nicht bestimmt (kein Wachstum)

¹⁾ ... Angaben bezogen auf mg kg^{-1} BoTM

Die Beimischung von CaCO_3 im Boden verhinderte den Abfall löslichen Proteins bei P-Mangel in den Gräsern (Tabelle 3.11). Bei P-Überschuss erhöhte CaCO_3 zusätzlich den Proteingehalt (Aufkonzentration).

Die Wurzelproteinmengen folgten in ihrem Verhalten weitgehend den Sprossgehalten (Anlage 13 im Anhang). Bei *Arrhenatherum elatius* und *Avena sativa* enthielten die Wurzeln rund die Hälfte der Sprossproteinmengen und bei *Elymus repens* 70-100 %. Durch Zugabe von CaCO_3 reduzierten sich die Wurzelproteinmengen um weitere 10-20 %.

3.2.6. Superoxid-Dismutasen-Aktivität unter P-Stress

Da in den vorangegangenen Kapiteln Stresswirkungen von P in den untersuchten Gräsern ermittelt werden konnten, sollte nun anschließend für eine differenziertere Aussage auch der oxidative Stress näher untersucht werden. Die Superoxid-Dismutasen (SOD) sind antioxidative Schlüsselenzyme, welche durch verschiedene Stressoren beeinflusst werden können und Rückschlüsse auf den oxidativen Stress zulassen. Im Detail wurden die Auswirkungen von P-Überschuss sowie P-Mangel und die Beeinflussung durch CaCO_3 auf die SOD näher untersucht.

3.2.6.1. Gelelektrophoretische Charakterisierung der Superoxid-Dismutasen in *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und *Avena sativa*

Da zu diesem Zeitpunkt in der Literatur zu den SOD bei den Spezies *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* gar keine und für *Avena sativa* nur alte wenig aussagekräftige Daten zur Verfügung standen, war eine grundlegende Charakterisierung der SOD mit modernsten Methoden in allen drei Spezies für die gesamte Arbeit unbedingt notwendig. Die Charakterisierung der SOD erfolgte in drei Teilschritten. Zuerst wurde in den drei Spezies der SOD-Nachweis in Spross und Wurzel durchgeführt (Abbildung 3.11). Im Anschluss daran erfolgte die Bestimmung der Molekülgrößen (Tabelle 3.12) und dann die Zuordnung der nachgewiesenen Isoenzyme mit dem Hemmtest (Abbildung 3.12).

Nach Auftrennung der Proteinextrakte im Native-PAGE und anschließender Zymographie ergaben sich für die drei Spezies jeweils in Spross und Wurzel drei gut unterscheidbare Proteinbanden mit SOD-Aktivität. Da die SOD in der Lage sind, die NBT-Reduktion zu inhibieren, erscheinen die SOD-Banden hell im durch gebildetes Formazan dunkel gefärbten Gel (Abbildung 3.11).

Die SOD-Isoenzyme wurden vereinbarungsgemäß nach ihrer Mobilität im Gel von der Anode zur Kathode gezählt. In Spross- und Wurzelgeweben waren die Molekülgrößen der drei SOD-Isoenzyme jeweils innerhalb einer Spezies identisch (Abbildung 3.11 b) und auch zwischen den Spezies *Arrhenatherum elatius* und *Avena sativa* gab es keine Unterschiede (Abbildung 3.11 a). Die SOD (A) konnte nicht in jedem Test bei jeder Behandlung nachgewiesen werden und die Proteinbande der SOD (B) war in einigen Fällen so breit, das sie vermutlich aus zwei in ihrem Molekulargewicht sehr ähnlichen Isoenzymen bestand, die sich nicht vollständig voneinander trennten. Mit einer Steigerung der aufgetragenen Proteinmenge waren in den Phosphat-Puffer löslichen Proteinextrakten darüber hinaus keine weiteren SOD-Isoenzyme nachweisbar.

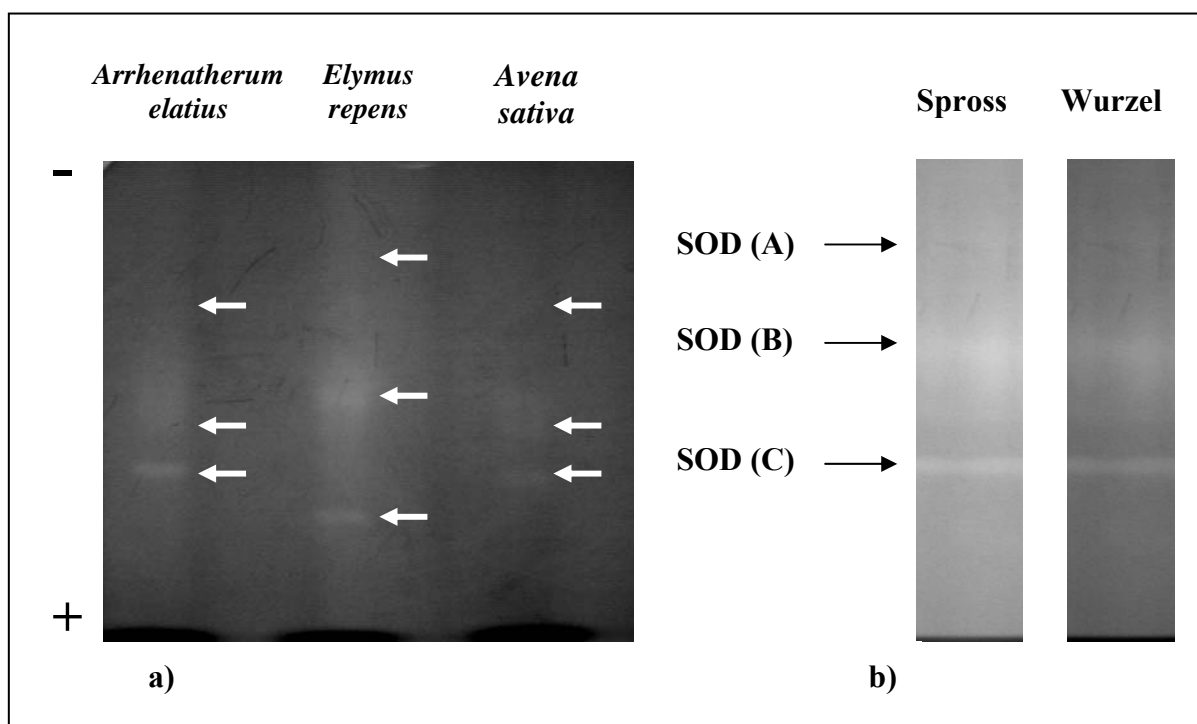


Abbildung 3.11: Gelelektrophoretische Auftrennung (Native-PAGE, 10 %) der Superoxid-Dismutasen a) Vergleich von *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und *Avena sativa* (aufgetragene Proteinmenge: je 40 µg Phosphat-Puffer lösliches Wurzelprotein) und b) *Elymus repens* Spross und Wurzel (50 µg Phosphat-Puffer lösliches Spross- bzw. Wurzelprotein)

Die im SDS-PAGE ermittelten R_F -Werte erlaubten unter Berücksichtigung des verwendeten Proteinstandards mit bekannten Molekülgrößen die Berechnung der apparenten Molekülgrößen der SOD-Isoenzyme. Diese sind (Tabelle 3.12) zu entnehmen. Die Anzahl und die Aktivität der vorhandenen SOD-Isoenzyme variiert mit dem Alter und den Umwelteinflüssen bzw. Kultivierungsbedingungen der Pflanzen wie die *Gefäßversuche A* und *B* sowie der *Versuch C* im Freiland noch zeigen werden.

Tabelle 3.12: Molekulargewichte der in Spross- und Wurzelgeweben nachgewiesene Superoxid-Dismutasen von *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und *Avena sativa*

SOD-Isoenzyme	Molekulargewicht [kDa]		
	<i>Arrhenatherum elatius</i>	<i>Elymus repens</i>	<i>Avena sativa</i>
Mn-SOD	60-70	80-90	60-70
Cu/Zn-SOD ₁	35-40	40-45	35-40
Cu/Zn-SOD ₂	30-35	25-30	30-35

In den Hemmversuchen wurde nachgewiesen, dass SOD (B) und SOD (C) in allen drei Spezies sensitiv gegenüber KCN waren (Abbildung 3.12). Das gleiche Bild zeigte sich für die H₂O₂-Behandlung. Damit handelte es sich bei den SOD (B) und (C) in den drei untersuchten Spezies um

Cu/Zn-SOD. Die SOD (A) verhielt sich dagegen gegensätzlich und wurde weder durch H_2O_2 noch von KCN inhibiert und konnte somit als Mn-SOD identifiziert werden.

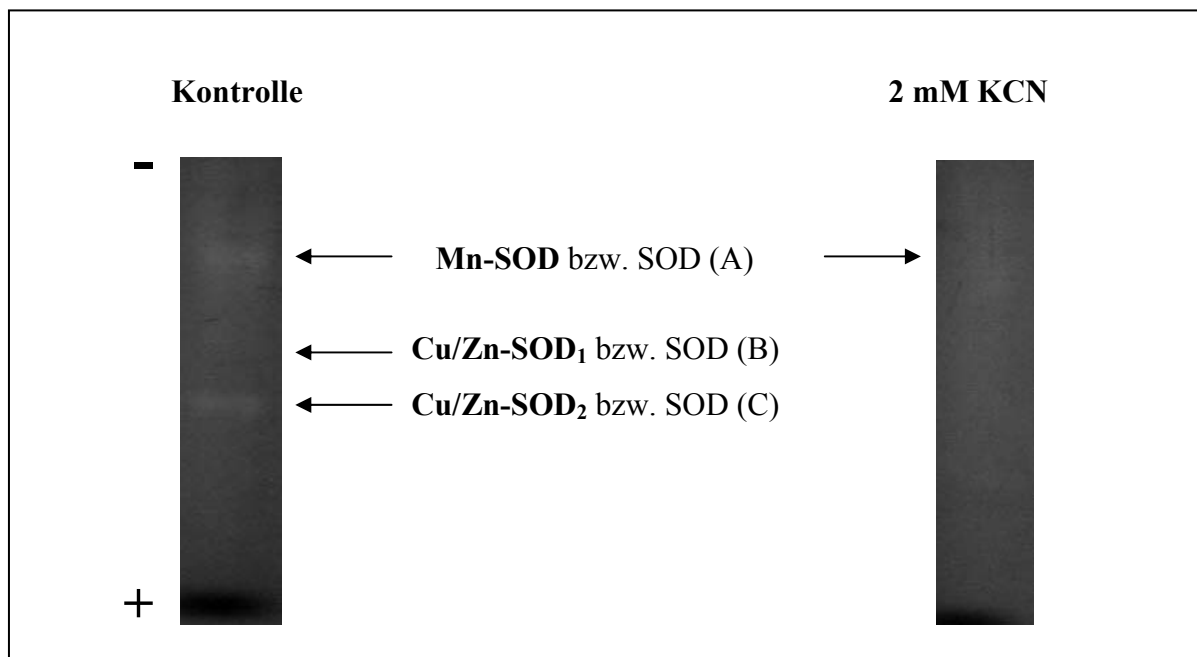


Abbildung 3.12: Hemmbarkeit der SOD-Isoenzyme durch 2 mM KCN am Beispiel von *Elymus repens* (aufgetragene Proteinmenge 70 μg Phosphat-Puffer lösliches Wurzelprotein) nach gelelektrophoretischer Auftrennung (Native-PAGE, 10 %)

3.2.6.2. Aktivitäten der Superoxid-Dismutasen bei P-Stress - Densitometrische Auswertung

Die densitometrische Auswertung (Abbildung 3.13) der Gele mit dem Computerprogramm Aida 2.0 ermöglichte die Quantifizierung der Enzymaktivitäten der einzelnen SOD-Isoenzyme über einen Vergleich der Helligkeitsunterschiede von Proteinbanden und Gelgrundfärbung.

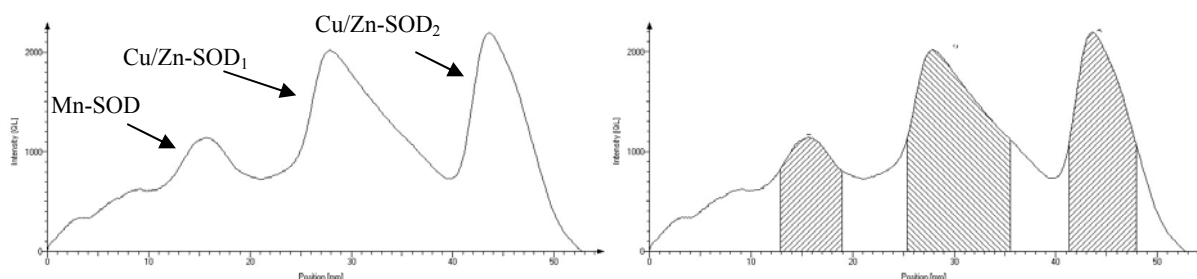


Abbildung 3.13: Densitometrische Auswertung der SOD-Isoenzymaktivität in Wurzelgewebe von *Elymus repens*

Im Gefäßversuch A konnten in Spross und Wurzel der drei Spezies in allen Behandlungen stets Cu/Zn-SOD₁ und Cu/Zn-SOD₂ nachgewiesen werden (siehe dazu Anlage 14 im Anhang). Die Mn-SOD konnte nur in den Wurzelproben von *Elymus repens* und mit CaCO_3 -Zusatz in Sprossproben von *Arrhenatherum elatius* detektiert werden. Die Aktivitäten der SOD-Isoenzyme waren im Spross in

ihren Intensitäten sehr ähnlich. Die Cu/Zn-SOD₂ hatte ihre höchste Aktivität im Spross. In der Wurzel hatte die Cu/Zn-SOD₁ stets die höchste Aktivität mit mindestens der doppelten Aktivität der Cu/Zn-SOD₂ bzw. der Mn-SOD.

In allen drei untersuchten Spezies waren die Aktivitäten der Cu/Zn-SOD₁ und der Cu/Zn-SOD₂ in ihrer Reaktion auf die unterschiedlichen Boden-P-Gehalte weitgehend gleich (Abbildung 3.14, Anlage 14). Unter Abwesenheit von CaCO₃ erhöhte moderater Mangel bzw. Überschuss von P die SOD-Aktivität im Vergleich zum Optimum (140 mg P kg⁻¹ BoTM). Bei weiterer Zunahme des P-Defizits bzw. des P-Überschusses fiel die SOD-Aktivität wieder auf das Niveau des P-Optimums ab, da die Enzymbiosynthese unter Extrembedingungen eingeschränkt wird.

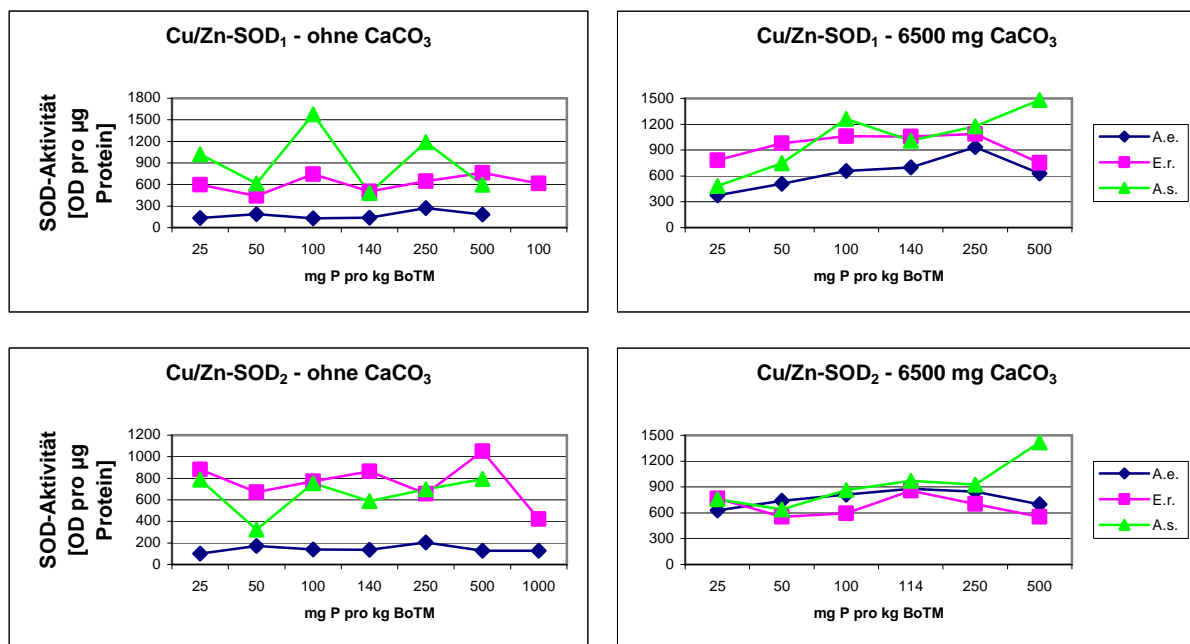


Abbildung 3.14: Gefäßversuch A – Auswirkungen unterschiedlicher Boden-P-Gehalte auf die SOD-Aktivität (densitometrische Auswertung) im Spross von *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und *Avena sativa* unter Abwesenheit und mit CaCO₃

Der CaCO₃-Zusatz im Bodensubstrat reduzierte die Schwankungen zwischen den P-Konzentrationen (Abbildung 3.14), die SOD-Aktivität war generell ausgeglichener. Die Erhöhung der SOD-Aktivität fiel so auch bei moderatem P-Mangel bzw. P-Überschuss mit CaCO₃ bei der Cu/Zn-SOD₁ geringer aus, bei der Cu/Zn-SOD₂ zeigte keine der drei Spezies diese Erhöhung. Bei Verstärkung des P-Mangels bis 25 mg P kg⁻¹ BoTM kam es mit CaCO₃ bei allen drei Spezies, bei P-Überschuss bei *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* auch hier ausgelöst durch veränderte Enzymbiosynthese zu einem Abfall der SOD-Aktivität. *Avena sativa* erhöhte die SOD-Aktivität bei P-Überschuss.

Letztlich zeigten die Untersuchungen an den Versuchsgräsern deutlich, dass die SOD-Aktivität bei moderaten P-Stressintensitäten als Stressindikator und Stressmodulator geeignet ist. Bei starken Stresszuständen sollte die SOD-Aktivität dagegen nicht verwendet werden, denn dann ist die SOD-Aktivität aufgrund einer eingeschränkten Enzymbiosynthese gestört.

3.2.7. Pflanzenstress induzierte Veränderungen des Boden-pH-Wertes

Von Pflanzen ist bekannt, dass sie bei mangelnder Bioverfügbarkeit verschiedener Nährelemente im Boden (Nährstoffstress) den pH-Wert im wurzelnahen Raum (Rhizosphäre) durch den Ausstoß von Protonen senken, um so die Verfügbarkeit dieser Elemente z.B. P im Boden zu erhöhen (Kapitel 1.2). Auch im vorliegenden *Gefäßversuch A* sollte diese Wirkung bei P-Mangel aber ebenso bei P-Überschuss untersucht werden (Abbildung 3.15). In der Versuchsvariante mit CaCO_3 war die pH-Pufferwirkung der Bodensubstrate im Vergleich zu den Böden ohne CaCO_3 von großem Interesse.

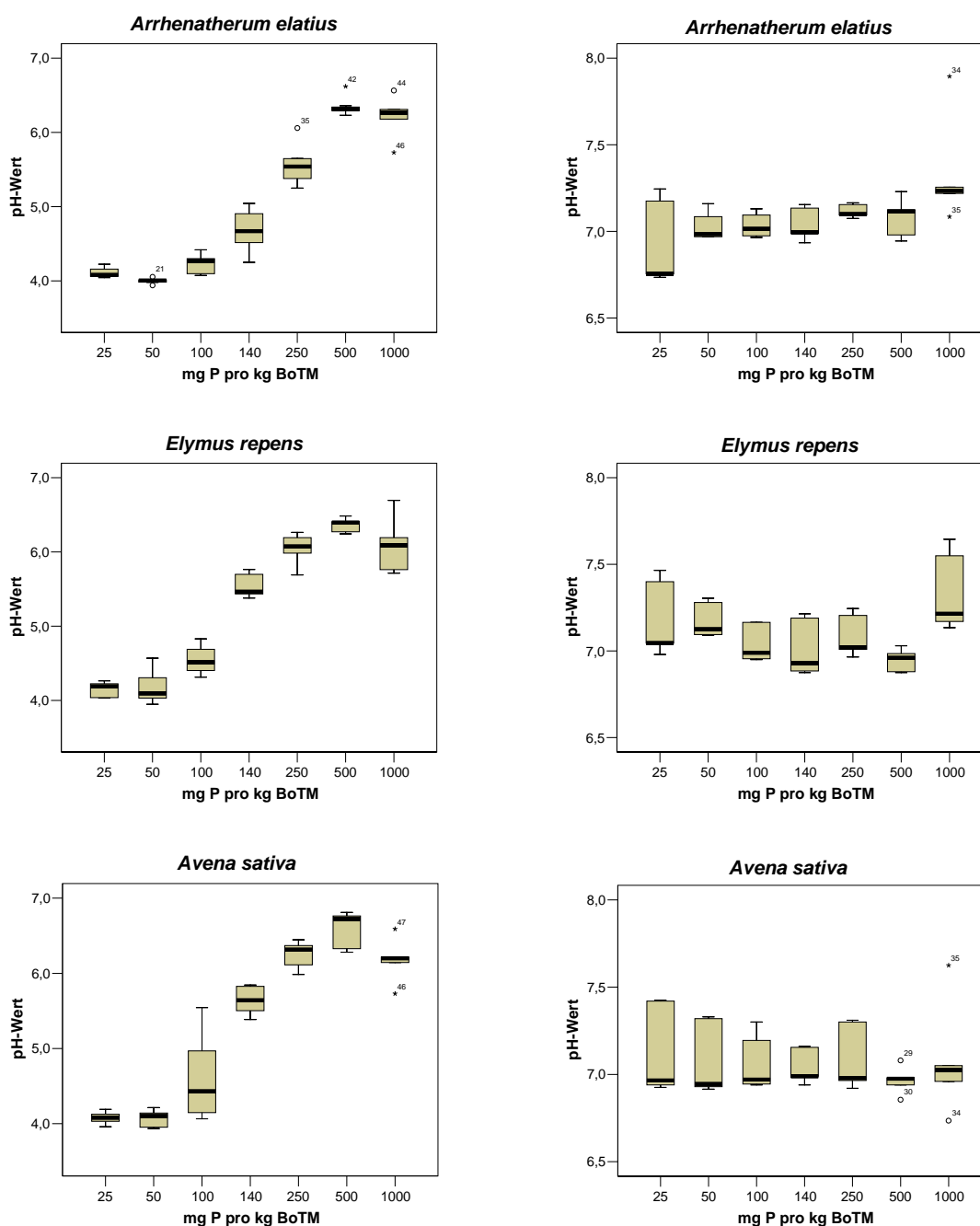


Abbildung 3.15: *Gefäßversuch A* – Boden-pH-Werte in Gefäßen bewachsen mit *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und *Avena sativa* bei steigendem Boden-P-Gehalt: links ohne CaCO_3 , rechts mit $6500 \text{ mg CaCO}_3 \text{ kg}^{-1} \text{ BoTM}$

Die Untersuchungen der Boden-pH-Werte zeigten bei allen drei Versuchsgräsern generell die gleichen Ergebnisse (Abbildung 3.15). Unter Abwesenheit von CaCO_3 senkten die Pflanzen den pH-Wert mit sinkendem P-Gehalt im Boden ausgehend von dem höchsten pH-Wert 6,5 bei 500 mg P kg^{-1} BoTM über Abstufungen bis pH 4,0 (50 mg P) signifikant ab (Anlage 12, Einfaktorielle ANOVA, $P < 0,05$). Ab einem P-Gehalt von 50 mg im Boden gab es keine weitere Absenkung zu 25 mg P , der pH-Wert stagnierte auf dem niedrigen Niveau um pH 4,0. Die mittleren pH-Werte bei 1000 mg P waren bei allen drei Gräsern kleiner als bei 500 mg P (Abbildung 3.15, Anlage 12).

Der CaCO_3 -Zusatz von 6500 mg kg^{-1} BoTM verhinderte jegliche Absenkung der pH-Werte durch die Pflanzen (Abbildung 3.15). Bei keiner der drei Spezies gab es signifikante Unterschiede der pH-Werte zwischen den verschiedenen P-Gehalten. Der pH-Wert stellte sich im Mittel zwischen pH 6,9 und pH 7,3 ein (Anlage 12).

Um eine pH-Wert-Beeinflussung durch den Einsatz des P-Salzes (K_2HPO_4) auszuschließen, wurden neben den pH-Werten der bepflanzten Gefäße auch pH-Werte im Substrat unbewachsener Kontrollen für die einzelnen P-Gehalte mit untersucht. Die ermittelten Differenzen (ΔpH -Werte) zwischen den bewachsenen Gefäßen und den unbewachsenen Kontrollen in Tabelle 3.13 bestätigten die pH-Wert-Absenkungen durch die Pflanzen mit sinkendem P-Angebot im Substrat unter Abwesenheit von CaCO_3 . Dabei konnte mit den ΔpH -Werten schon eine leichte Absenkung ab $1000 \text{ mg P kg}^{-1}$ BoTM (P-Überschuss!) festgestellt werden, die sich über die P-Zwischenstufen bis zu P-Mangel (50 mg P) immer weiter verstärkte. Bei 25 mg P zeigte sich, dass das P-Salz den pH-Wert der unbewachsenen Kontrolle auch ohne Bewuchs bereits deutlich absenkte. Auch die pH-Absenkung von 500 zu 1000 mg P beruhte anhand der ΔpH -Werte auf dem P-Salz. Die Pufferwirkung von CaCO_3 war auch bei den ΔpH -Werten aller P-Gehalte nachzuweisen und verhinderte jedwede Absenkung des pH-Wertes (Tabelle 3.13).

Tabelle 3.13: Gefäßversuch A - ΔpH -Werte als Differenzen von Gefäßböden mit Pflanzenbewuchs abzüglich gleichbehandelter Kontrollböden ohne Bewuchs bei unterschiedlichen Phosphorgehalten im Boden unter Abwesenheit und mit CaCO_3

P-Gehalt ¹⁾	ΔpH -Werte						
	25	50	100	140	250	500	1000
ohne CaCO_3							
<i>Arrhenatherum elatius</i>	1,67	2,16	2,30	1,95	1,03	0,30	0,13
<i>Elymus repens</i>	1,64	1,98	1,97	1,09	0,53	0,29	0,29
<i>Avena sativa</i>	1,70	2,10	1,91	0,99	0,34	0,08	0,18
6500 mg CaCO_3 ¹⁾							
<i>Arrhenatherum elatius</i>	0,28	0,09	0,09	-0,05	0,07	0,05	-0,14
<i>Elymus repens</i>	0,02	-0,05	0,08	-0,03	0,10	0,19	-0,14
<i>Avena sativa</i>	0,07	0,04	0,05	-0,05	0,09	0,17	0,12

Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben. Die Ca-Grundversorgung war $160 \text{ mg Ca kg}^{-1}$ BoTM als CaSO_4 . Die der Tabelle zugrunde liegenden Mittelwerte \pm Standardabweichung sind in Anlage 12 im Anhang aufgeführt.

¹⁾ ... Angaben bezogen auf mg kg^{-1} BoTM

3.3. Einfluss einer Erhöhung des pflanzenverfügbaren N und P in standort-typischem Bodensubstrat auf Wachstum, Mineralelement- und Stress-Status von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* – Gefäßversuch B Teil 1

3.3.1. Einfluss auf Wachstum und Biomassebildung

Nachdem in den Bodenuntersuchungen (Kapitel 3.1.2.3) deutlich wurde, dass ein starkes N_{\min} -Defizit im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ vorherrscht, aber standortübliche P-Verfügbarkeiten von 200-300 mg P kg⁻¹ BoTM in *Gefäßversuch A* nur eine mittlere P-Stressbelastung erzeugten, sollte jetzt an stark P-belastetem Bodensubstrat eine Stresswichtung zwischen N-Defizit und P-Exzess vorgenommen werden. Zu diesem Zweck wurden in einem weiteren Modellexperiment (*Gefäßversuch B*) *Arrhenatherum elatius* (= Glatthafer) und *Elymus repens* (= Quecke) auf stark P-belastetem Boden (verfügbar 174 mg P kg⁻¹ BoTM, siehe Bodenparameter Anlage 3 und Anlage 4 im Anhang) vom Standort „Steudnitz“ (Kapitel 2.3.2) in einer Versuchsvariante 200 mg N kg⁻¹ BoTM als NH_4NO_3 zusätzlich gedüngt und in einer weiteren Variante 140 mg P kg⁻¹ BoTM als K_2HPO_4 zusätzlich gedüngt. Daneben gab es noch eine unbeeinflusste Kontrollvariante (Abbildung 3.16). *Avena sativa* (= Hafer) wurde als nicht standorttypische Referenzpflanze hinzugenommen. Da *Avena sativa* in der Pflanzenernährung (Neubauversuche) eine bevorzugte Testpflanze ist.

Folgende Versuchsfragen wurden abgeleitet: In welcher Rangfolge sind die Stressintensitäten von N_{\min} und P-Exzess zu ordnen und in welcher Intensität reagieren die einzelnen Spezies auf diese Stressoren? Hat das Konsequenzen für das Konkurrenzverhalten der Spezies und damit Auswirkungen auf das Vegetationsmuster (Biodiversität) im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“? Welche Erkenntniszuwächse ergeben sich für Phytoremediations- und Sanierungsstrategien?



Abbildung 3.16: *Gefäßversuch B* Teil 1 – Auswirkung der N- und P-Düngung (200 mg N bzw. 140 mg P kg⁻¹ BoTM) auf die Produktivität von *Arrhenatherum elatius* (rechts), *Elymus repens* (Mitte) und *Avena sativa* (links) bei P-Exzess im Boden, die Kontrollen (Ko.) blieben ungedüngt

Erste deutliche Anzeichen einer Wirkung der N-Düngung zeigten schon die Wachstumsunterschiede zu den anderen Versuchsvarianten (Abbildung 3.16), die sich anhand der Biomasse bestätigten (Tabelle 3.14). In allen drei Spezies stiegen die Spross- und Wurzelbiomassen durch die Erhöhung des pflanzenverfügbaren N sprunghaft an (Tabelle 3.14, Anlage 17 im Anhang). Die Sprossmassen stiegen

um das Vierfache (400 %) gegenüber den Kontrollen (100 %) und die Wurzelmassen um das Doppelte (200 %). Für das Spross/Wurzelverhältnis bedeutete dies eine deutliche Verschiebung von 1:2 zu 1:1.

Die Zugabe von verfügbarem P bei gleichzeitigem P-Überschuss im Boden verursachte im Gegensatz zur N-Wirkung in den Versuchsgräsern eine deutliche Abnahme der Biomassen (Tabelle 3.14, Anlage 17). Das Spross/Wurzelverhältnis blieb mit 1:2 unverändert, da keine Veranlassung zu einer gesteigerten Nährstoffaufnahme bestand.

Tabelle 3.14: *Gefäßversuch B* Teil 1 - Wirkung von N- und P-Zufuhr auf die Spross- und Wurzel-trockenmasse von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* im Modellversuch bei P-Exzess im Boden

	Trockenmasse [g dm ⁻²]			
	<i>Arrhenatherum elatius</i>		<i>Elymus repens</i>	
	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
Kontrolle	1,01 ^b	2,03 ^a	0,69 ^a	1,27 ^a
N-Düngung	3,46 ^c	3,14 ^b	3,18 ^b	2,50 ^b
P-Düngung	0,89 ^a	1,92 ^a	0,53 ^a	1,24 ^a

N-Düngung 200 mg N kg⁻¹ BoTM als NH₄NO₃, P-Zusatzdüngung 140 mg P kg⁻¹ BoTM als K₂HPO₄; Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben; Unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikant-unterschiedliche Mittelwerte (a<b<c; P<0,05) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test). Die zugrunde liegenden Mittelwerte ± Standardabweichung sind in Anlage 17 aufgeführt.

3.3.2. Auswirkungen auf die Elementaufnahme untersuchter Gräser

Die Analyse der bodenchemischen Parameter des stark P-belasteten Bodens aus dem Untersuchungsgebiet „Stednitz“ zeigte z.T. stark gestörte Proportionen der untersuchten Mineralelemente im Vergleich zu mitteleuropäischen Normwerten (Kapitel 3.1). Da dieser Boden auch im *Gefäßversuch B* verwendet wurde und der Elementstatus der Pflanzen die Grundlage der später noch zu untersuchenden physiologischen und biochemischen Parameter darstellt, galt es nun zuerst zu prüfen in welcher Weise die stressmindernde N-Düngung und die stressverstärkenden P-Zusatzdüngung die Elementaufnahme oder die Elementproportionen in den untersuchten Spezies verändern. Für die Analyse wurden die Spross- und Wurzelproben in der Mikrowelle unter Druck aufgeschlossen und die Elementgehalte in der ICP-OES bestimmt (für Methode siehe Kapitel 2.4.1). Die Anzahl der bestimmten Elemente in der ICP-OES wurde durch eine Vorauswahl auf die Makroelemente Ca, K, Mg, Na und P, auf die Mikroelemente Fe, Mn, und Zn sowie das im P-belasteten Boden ebenfalls angereicherte Cd (siehe Kapitel 3.6) begrenzt.

Einen ersten Überblick sollen die Elementkonzentrationen im Spross gemäß Tabelle 3.15 geben. Zum Vergleich wurden Konzentrationen aus der Literatur als Referenzwerte der Tabelle 3.15 angefügt. Optimal versorgt waren danach die Pflanzen aller drei Spezies mit Ca, Mg und Fe aber auch mit P (!!!), trotzdem dass P sehr hohe Verfügbarkeiten (*Olsen P*) mit 174 mg P kg⁻¹ BoTM aufwies (Tabelle 3.16). Damit kann nicht mit einem erhöhten P-Stress (P-Exzess) durch eine hohe pflanzliche P-Aufnahme im *Gefäßversuch B* gerechnet werden.

Nicht optimal (Tabelle 3.15) waren mit Bezug auf die Referenzwerte dagegen die geringeren Sprossgehalte von Mn bei allen drei Spezies und von Zn bei *Arrhenatherum elatius* sowie *Avena sativa*. Bei beiden Elementen ist ein negativer Einfluss hoher P-Gehalte im Boden anzunehmen. So kann die Mn-Aufnahme in die Pflanze nach Neilsen *et al.* (1992) durch zuviel P im Boden gestört sein und Zn wird bei ohnehin niedrigem Zn-Angebot in der Wurzel festgelegt und nicht in den Spross transferiert (Bergmann, 1992). Des Weiteren bewirken hohe Boden-pH-Werte oder hohe CaCO_3 -Konzentrationen eine Festlegung vor allem bei Mn im Boden (Bergmann, 1992).

Tabelle 3.15: Gefäßversuch B Teil 1 - Mineralelementkonzentrationen (Ca, Mg, P, K, Na, Fe, Mn, Zn) im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach N- und P-Düngung im Modellversuch mit P-Exzess im Boden

Mineralelementkonzentration im Spross [µg g ⁻¹ Spross-TM]							
	<i>Arrhenatherum elatius</i>			<i>Elymus repens</i>			Referenzwerte
	Kontrolle	N	P	Kontrolle	N	P	
Ca	8187	7511	7921	13426	9563	16891	5000-10000 ¹⁾
Mg	4266 ^b	4607 ^c	4028 ^a	3395 ^b	3136 ^b	2787 ^a	2000-3000 ¹⁾
P	3446 ^b	2995 ^a	3784 ^b	4745 ^{ab}	3554 ^a	5759 ^b	3500-6000 ¹⁾
K	30720 ^b	23169 ^a	28614 ^b	23439 ^{ab}	22656 ^a	25806 ^b	45000-58000 ¹⁾
Na	196 ^b	131 ^a	216 ^b	296 ^{ab}	230 ^a	457 ^b	40-2000 ¹⁾
Fe	140 ^b	65 ^a	154 ^b	359 ^b	177 ^a	390 ^b	50-800 ²⁾
Mn	19 ^{ab}	17 ^a	29 ^c	33 ^b	24 ^a	48 ^c	40-100 ¹⁾
Zn	24	24	22	40	46	41	25-70 ¹⁾

N-Düngung 200 mg N kg⁻¹ BoTM als NH_4NO_3 , P-Zusatzdüngung 140 mg P kg⁻¹ BoTM als K_2HPO_4 ; Unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikant-unterschiedliche Mittelwerte ($a < b < c$; $P < 0,05$) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test). Die zugrunde liegenden Mittelwerte \pm Standardabweichung sind in Anlage 15 und Anlage 16 aufgeführt. Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben.

¹⁾ ... Sprossgehalte von *Avena sativa* nach Bestockung zu Beginn des Sprossschiebens aus Bergmann (1992)

²⁾ ... Fe-Gehalte grüner Pflanzenteile 50-200 µg g⁻¹ PFTM; Gräser ferrophil, bis 800 µg g⁻¹ PFTM möglich (Bergmann, 1992)

Die Na-Aufnahme war in allen untersuchten Spezies trotz höherer Na-Bodengehalte im Normbereich (Tabelle 3.15). Dies weist ferner darauf hin, dass keine Na/K-Imbalance vorlag. Zumal die K-Gehalte trotz Abweichung von den Referenzwerten noch im Normbereich lagen. Man bedenke, dass die Na-Aufnahme in Pflanzen in der Regel in Wechselwirkung mit der K-Aufnahme stattfindet, weil z.B. auf molekularer Ebene gekoppelte Na/K-Transporter bekannt sind (Puhl, 2007). Die N-Aufnahme liegt für Gräser auf Boden vom Belastungsstandort „Steudnitz“ im Mittel bei 2-3% der TM (Friedrich, 2002) und war somit sehr niedrig (normal 5-6 %). Auf eigene Analysen des N wurde hier aufgrund sehr ausführlicher Untersuchungen früherer Arbeiten unserer Arbeitsgruppe und dem Graduiertenkolleg verzichtet.

Anmerkung: Da bisher nur der Spross besprochen wurde ein kurzer Kommentar zur Wurzel. Der größere Teil der untersuchten Mineralelemente Ca, Na, P, Fe, Mn und Zn war in den Versuchsgräsern stärker in der Wurzel lokalisiert. Mg war in Spross und Wurzel annähernd gleich verteilt. Der K-Gehalt im Spross war dreimal höher als in der Wurzel (siehe dazu Anlage 15 und Anlage 16 im Anhang).

Bisher wurden Wirkungen der Erhöhung des pflanzenverfügbaren N und P auf die Mineralelemente nicht getrennt besprochen, deshalb sollen jetzt N- und P-Effekte separat betrachtet werden.

Der Ausgleich des N-Mangels im belasteten Boden durch die N-Düngung hatte auch bei den Mineral- elementen deutliche Mehraufnahmen in Spross und Wurzel zur Folge. Mit der Biomasse steigerten alle Spezies den Elemententzug im Spross um das Drei- bis Vierfache (Tabelle 3.16) und in der Wurzel bis um das Doppelte. Für P beispielsweise stieg die Sprossaufnahme von 5 % in den Kontrollen auf 20 % der verfügbaren P-Menge in den N-gedüngten Varianten (Tabelle 3.16).

Anmerkung: Wenn ich hier P gewählt habe, ist dies gleichzeitig noch ein Beleg dafür, dass kein P-Stress durch den P-Exzess im Boden verursacht wurde, denn die Pflanzen passten ihre P-Aufnahme dem Wachstum an und nicht den Bodengehalten. Die Pflanzen konnten die P-Aufnahme selbst steuern.

Das der Entzug an Mineralelementen nur näherungsweise dem Wachstum bei N-Düngung folgen konnte und nicht immer zum Optimum führte, zeigten die Konzentrationen von Ca, K, Fe aber auch P in Tabelle 3.15 sowie Anlage 15 und Anlage 16 im Anhang. Diese Elemente wurden bei N-Düngung von allen untersuchten Gräsern geringer aufgenommen (Verdünnungseffekt). Für K, das ebenfalls eine Antistresswirkung besitzt, wäre nach diesen Ergebnissen für die Phytoremediation eine K-Zusatz- düngung bei N-Düngung zu erwägen (siehe Diskussion). Dessen ungeachtet steigerte die N-Düngung aber generell die Aufnahme aller Elemente aus dem Boden (Tabelle 3.16) und stellt damit gerade für Phytoremediations- und Sanierungsstrategien ein wertvolles Instrument dar.

Tabelle 3.16: Gefäßversuch B Teil 1 - Mineralelementaufnahme in die oberirdische Biomasse von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach N- und P-Düngung

unter- suchte Parameter	Element- gehalt im Boden [mg kg ⁻¹]	Mineralelemententzug [mg dm ⁻²]					
		<i>Arrhenatherum elatius</i>			<i>Elymus repens</i>		
		Kontrolle	N	P	Kontrolle	N	P
Ca	248073	8,3	26,0	7,0	9,3	30,4	8,9
Mg	7038	4,3	15,9	3,6	2,4	10,0	1,5
P(<i>Olsen P</i>)	46712 (174)	3,5	10,4	3,4	3,3	11,3	3,0
K	6426	31,1	80,2	25,4	16,3	72,0	13,6
Na	5717	0,20	0,46	0,19	0,21	0,73	0,24
Fe	8929	0,141	0,225	0,137	0,249	0,564	0,205
Mn	200	0,019	0,058	0,026	0,023	0,076	0,025
Zn	69	0,025	0,083	0,020	0,028	0,145	0,022
Boden-pH	-	7,49	7,37	7,53	7,48	7,54	7,54

Die Bodenelementgehalte nach Königswasseraufschluss beziehen sich auf die BoTM. Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben. N-Düngung 200 mg N kg⁻¹ BoTM als NH₄NO₃, P-Zusatzdüngung 140 mg P kg⁻¹ BoTM als K₂HPO₄; Die Tabelle wurde zusammengestellt aus Anlage 3, Anlage 4, Anlage 17, Anlage 15 und Anlage 16

Anders verhielten sich die Gräser der mit P zusätzlich gedüngten Versuchsvarianten. Hier folgte der in Kapitel 3.3.1 schon erwähnten Wachstumsminderung auch ein geringerer Entzug an Mineral- elementen aus dem Boden im Vergleich zu den Kontrollen (Tabelle 3.16). Es kam zu einem Konzen- trationseffekt bei K, P, Fe und Mn im Spross (Tabelle 3.15). Auf weniger auffälligere Unterschiede zwischen den untersuchten Spezies z.B. bei Zn wird hier nicht weiter eingegangen. Sie werden in der Diskussion aber nochmals aufgegriffen.

Neben der Elementverteilung in den Geweben der untersuchten Spezies wurden auch ausgewählte Elementproportionen auf Elementkonzentrationsbasis vor allem im Spross näher betrachtet (Tabelle 3.17). In allen Versuchsvarianten lagen die physiologisch interessanten Verhältnisse (Ca/Mg, Ca/P, Fe/P und Zn/P) innerhalb normaler Grenzen. Auch das K/P-Verhältnis kann noch als normal gelten. Das zu Gunsten des P hin verschobene Mn/P-Verhältnis in *Arrhenatherum elatius* war in der Kontrollvariante und bei N-Düngung ein Ausdruck der geringen Mn-Aufnahme dieser Spezies (Tabelle 3.17).

Tabelle 3.17: *Gefäßversuch B* Teil 1 - Ausgewählte Elementverhältnisse im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach N- oder P-Düngung bei P-Exzess im Boden

Verhältnis	Mineralelementverhältnisse						Schwankungsbereich der Referenzwerte ¹⁾
	<i>Arrhenatherum elatius</i>			<i>Elymus repens</i>			
	Kontrolle	N	P	Kontrolle	N	P	
Ca/Mg	1:0,5	1:0,6	1:0,5	1:0,3	1:0,3	1:0,2	1:0,2 – 1:0,6
Ca/P	1:0,42	1:0,40	1:0,48	1:0,35	1:0,37	1:0,34	1:0,35 – 1:1,2
K/P	1:0,11	1:0,13	1:0,13	1:0,20	1:0,16	1:0,22	1:0,06 – 1:0,13
Fe/P	1:25	1:46	1:25	1:13	1:20	1:15	1:4 – 1:120
Mn/P	1:180	1:180	1:130	1:150	1:150	1:120	1:35 – 1:150
Zn/P	1:140	1:120	1:170	1:120	1:80	1:140	1:5 – 1:240

Die Elementverhältnisse wurden mit Daten aus Anlage 15 und Anlage 16 berechnet. Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprosschieben. N-Düngung 200 mg N kg⁻¹ BoTM als NH₄NO₃, P-Zusatzdüngung 140 mg P kg⁻¹ BoTM als K₂HPO₄

¹⁾ ... Die Referenzwerte sind in Tabelle 3.15 aufgeführt.

3.3.3. Beeinflussung der pflanzlichen Stressreaktion durch die N- und P-Düngung

Durch die N-Düngung und die Düngung mit gut pflanzenverfügbarem wasserlöslichem P veränderte sich die Konzentration des Stressindikators *freies* Prolin und die durch oxidativen Stress modifizierte Enzymaktivität des SOD-Komplexes im Pflanzenmaterial der untersuchten Gräserarten. Prolin wurde hier als Stressindikator gewählt, da in früheren Arbeiten von Bergmann *et al.* (2002) und anderer Publikationen (Ali *et al.*, 1999; Mehta & Gaur, 1999) bei Einwirkung abiotischer Stressoren (z.B. Wassermangel, Schwermetallüberschuss oder Salinität) die Konzentration an *freiem* Prolin enorm anstieg. Daher wurde durch Verminderung des N-Defizits (Reduktion des N-Mangelstress), rein formal eine Abnahme des Gehaltes an *freiem* Prolin erwartet. Hierbei wurde jedoch noch nicht bedacht, dass der N-Mangel in den Pflanzen so gravierend war. Denn entgegen der Erwartung stieg durch die zusätzliche N-Düngung gemäß Tabelle 3.18 trotz enormen Biomasseanstiegs die Konzentration an *freiem* Prolin an. Damit schied *freies* Prolin ebenso wie das in unserer Arbeitsgruppe oft herangezogene Glycinbetain als Stressindikator unter N-Mangelbedingungen aus. Somit war auch kein Prolinanstieg bei weiterer P-Anreicherung des Bodens zu erwarten (Tabelle 3.18). In eigenen Arbeiten und in Publikationen anderer wurde das eingegrenzte Stressindikationsvermögen von *freiem* Prolin und anderer *freier* Aminosäuren bisher unterschätzt und sollte unbedingt in einer Publikation bekannt gemacht werden.

Bevor aber von Prolin als Stressindikator unter N-Mangelbedingungen völlig Abstand genommen wurde, war nachfolgende Überlegung auf ihre Gültigkeit zu prüfen. Wenn physiologischer N-Mangel in Pflanzen vorliegt, sollte auch der Gehalt an Protein absinken (bzw. bei Verbesserung der N-Versorgung ansteigen - siehe Tabelle 3.18 Anstieg an löslichem Protein um 50 %). Das war in den vorliegenden Versuchen der Fall. Hier wäre nun zu fragen, ob bei einem gegebenen Proteinstatus (N-Status der Pflanzen) durch Stress das Prolin-N zu Protein-N-Verhältnis trotzdem als Stressantwort ansteigt. In der Literatur sind solche Studien nicht bekannt geworden, so dass dieser Schritt hier erstmals getan wurde. Wie der Tabelle 3.18 zu entnehmen ist, scheint sich in diesem Experiment das Verhältnis Prolin-N/Protein-N durch Stressintensitätsänderung zumindest bei *Elymus repens* auch zu ändern. Hier sank der Prolin-N-Anteil am Gesamt-Protein-N bei Abmilderung des N-Defizits, obgleich mehr N für die Pflanzen zur Verfügung stand. Dieser Denkansatz ist bei Bergmann *et al.* (2002) schon einmal veröffentlicht worden und sollte weiter verfolgt werden.

Tabelle 3.18: Gefäßversuch B Teil 1 – Konzentration an freiem Prolin und löslichem Protein sowie Prolin-N/Protein-N-Verhältnis im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach Erhöhung des verfügbaren N- und P-Gehaltes im Boden

	<i>Arrhenatherum elatius</i>			<i>Elymus repens</i>		
	Kontrolle	N	P	Kontrolle	N	P
Freies Prolin ¹⁾ [μmol g ⁻¹ Spross-TM]	1,04 ^a	1,58 ^b	0,97 ^a	0,94	1,20	0,94
Lösliches Protein ²⁾ [mg g ⁻¹ Spross-TM]	6,53	9,74	6,18	4,25	6,83	4,17
Prolin-N/Protein-N- Verhältnis [m:m]	1:70	1:70	1:70	1:50	1:70	1:50

N-Düngung 200 mg N kg⁻¹ BoTM als NH₄NO₃, P-Zusatzdüngung 140 mg P kg⁻¹ BoTM als K₂HPO₄; Unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikant-unterschiedliche Mittelwerte (a<b<c; P<0,05) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test). Die zugrunde liegenden Mittelwerte ± Standardabweichung sind in Anlage 17 und Anlage 18 aufgeführt. Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprosschieben.

¹⁾ ... freies Prolin nach Bates *et al.* (1974)

²⁾ ... lösliches Protein nach Bradford (1976)

Bei der Stressindikation mittels Bestimmung von SOD-Intensitäten wurde gemäß Kapitel 1.3.1 davon ausgegangen, dass unter Stressbedingungen mehr reaktive Sauerstoffspezies (ROS, z.B. Superoxidanion) gebildet werden, die dann durch höhere SOD-Aktivitäten eliminiert werden. Gewiss ist auch der SOD-Komplex als Proteinfraction vom N-Haushalt abhängig, aber im Unterschied zum freien Prolin, das in Pflanzen als N-Depot fungiert, handelt es sich bei den SOD um Enzyme, die für das Überleben von biologischen Zellen in einer sauerstoffhaltigen Umgebung essentiell sind. D.h. bei den SOD-Aktivitäten war eine Abkopplung vom N-Haushalt zu erwarten. Durch Bezugnahme der SOD-Aktivitäten auf die Proteinkonzentration in den Pflanzengewebe wurde eine weitere Entkopplung vom N-Haushalt erreicht. Wie der Abbildung 3.17 schließlich zu entnehmen ist, war tatsächlich der durch N-Düngung behobene N-(Mangel)-Stress von einer deutlichen Abnahme der SOD-Aktivitäten begleitet. Die Erhöhung verfügbarer P-Gehalte bei P-Exzess im Boden reichte dagegen nicht aus, um ein deutliches Stresssignal (SOD-Aktivitätsanstieg) abzugeben.

Eine positive Wirkung der N-Düngung auf die Versuchsgräsern zeigte auch der in der nicht-invasiven Stressforschung sehr beliebte Stressindikator Chlorophyll-Fluoreszenz, als effektive (eQAB) und maximale Quantenausbeute (mQAB) gemessen. Hier erhöhte die N-Düngung gemäß Anlage 17 im Anhang die eQAB und die mQAB (signifikant). Die Erhöhung pflanzenverfügbarer P-Gehalte im Boden senkte dagegen bei bestehendem P-Überschuss signifikant die eQAB und die mQAB (Anlage 17).

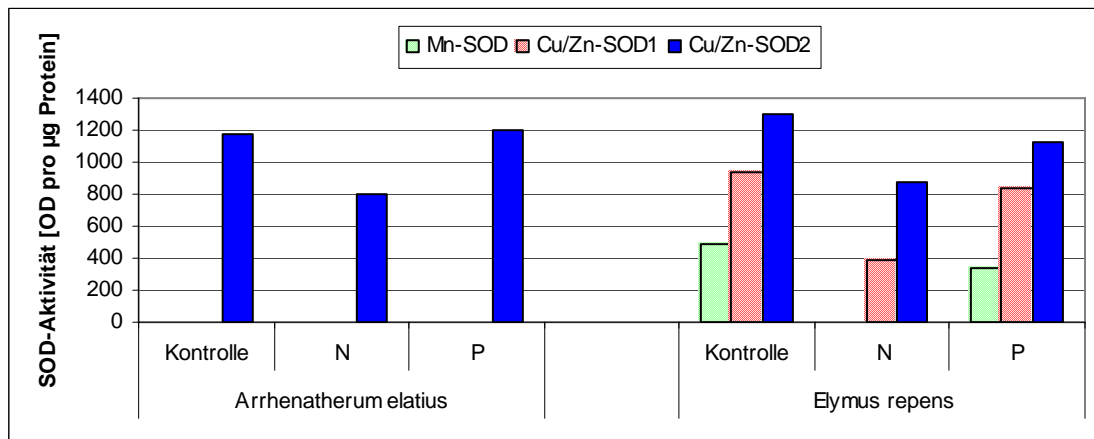


Abbildung 3.17: Gefäßversuch B Teil 1 - SOD-Isoenzym-Aktivitäten (densitometrische Auswertung) im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach Erhöhung des verfügbaren N- und P-Gehaltes im Boden (200 mg N bzw. 140 mg P kg⁻¹ BoTM), die Kontrollen blieben unbehandelt

Generell lässt sich zusammenfassen, dass die N-Düngung die Stressreaktion in den Versuchsgräsern bei N_{min}-Defizit im Boden abschwächte. Die zu erwartende negative Wirkung der P-Zusatzdüngung bei P-Überschuss im Boden war, auch aufgrund des bestehenden N-Mangels, nicht in allen getesteten Stressindikatoren nachzuweisen. Es ist jedoch auch weiterhin davon auszugehen, dass eine zusätzliche Erhöhung der P-Verfügbarkeit am Standort „Steudnitz“ z.B. durch eine künftige weitere Absenkung des Boden-pH-Wertes das Stresspotential auf die dort vorkommenden Gräser noch verstärken könnte.

3.4. Einfluss einer Applikation des Stresstoleranzaktivators 2-Aminoethanol und des Mikronährstoffes Fe als Chelat auf den Mineralelementstatus, die Produktivität und die Stressantwort von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens*– Gefäßversuch B Teil 2

Mit zwei weiteren Versuchsvarianten wurden im Gefäßversuch B gemäß der Aufgabenstellung ebenfalls der Stresstoleranzaktivator 2-Aminoethanol (2AE, Bergmann *et al.* (2002)) und der Mikronährstoff Fe als Chelat untersucht (Abbildung 3.18). Dabei bestand das Hauptziel vor allem darin, zunächst im kontrollierten Gefäßversuch die Einflüsse der beiden Phytoeffektoren auf die Stress-

reaktion von Pflanzen auf Boden mit N_{\min} -Mangel und P-Exzess aufzuklären, um die Eignung dieser Effektoren als Sanierungs- und Phytoremediationsinstrumente für N-Mangel und P-Exzess zu klären.

Der Mikronährstoff Fe wurde als Chelat (Fe-EDTA) in gut pflanzenverfügbarer Form den Versuchsgräsern *Arrhenatherum elatius* (= Glatthafer), *Elymus repens* (= Quecke) und der Referenzpflanze *Avena sativa* (= Hafer) zugefüttert (2,4 mg Fe kg⁻¹ BoTM als Chelat). Die Düngung mit pflanzenverfügbarem Fe schien für die Stabilisierung des Pflanzenwachstums Erfolg versprechend zu sein, da Fe durch hohe Phosphat-Konzentrationen im Boden (Samadi & Gilkes, 1999) aber auch durch Carbonate (Mengel *et al.*, 1984; Marschner *et al.*, 1986) immobilisiert wird. Außerdem war es für das Studieren von Biodiversitätsabläufen von Interesse gewesen, ob durch die Fe-Düngung das Vegetationsmuster zum Konkurrenzvorteil von *Arrhenatherum elatius* verändert werden kann.

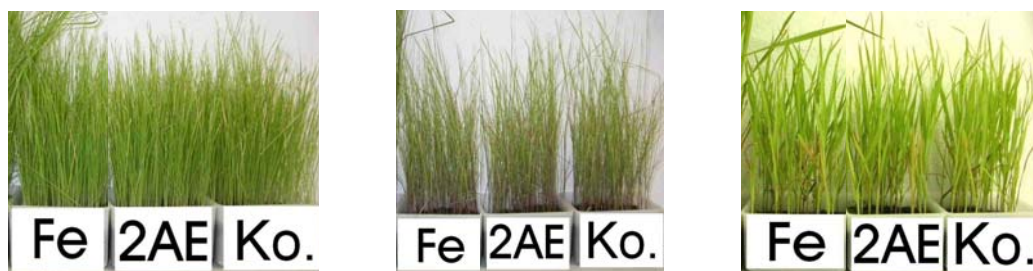


Abbildung 3.18: Gefäßversuch B Teil 2 – Auswirkung einer Fe-Chelat-Düngung (2,4 mg Fe kg⁻¹ BoTM) und einer 2-Aminoethanol-Applikation (4 mg 2AE dm⁻² als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht) auf das Wachstum von *Arrhenatherum elatius* (rechts), *Elymus repens* (Mitte) und *Avena sativa* (links) bei P-Überschuss im Boden, die Kontrollen (Ko.) blieben unbehandelt

In der 2-Aminoethanol-Variante wurden 4 mg 2AE dm⁻² (Gefäßfläche) als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium auf die Gräser gesprüht. Der wesentliche Grund für die Anwendung von 2AE bestand darin, dass dieser Aminoalkohol in Poaceen stressreduzierend wirkt (Kapitel 1.3.4). Dabei beruht die Wirkung von 2AE auf einer gesteigerten physiologischen Aktivität der Pflanzen und führt letztlich zu einer Toleranzsteigerung der Pflanzen gegenüber Stressoren (Mascher, 2002; Mascher *et al.*, 2005). Effekte von 2AE im Zusammenhang mit einem P-Überschuss im Boden wurden bisher noch nicht beschrieben und sollten gerade deshalb bei diesen Untersuchungen nicht unberücksichtigt bleiben.

3.4.1. Veränderung des Mineralelementstatus

Zunächst sollte nun geklärt werden, ob und wie die Fe-Düngung und die 2AE-Applikation die Fe-Aufnahme aber auch die gesamte Mineralstoffaufnahme aus dem Boden verändert (Tabelle 3.19). Die Auswahl der untersuchten Mineralelemente und ihre Analytik war innerhalb des Gefäßversuches B identisch (siehe dazu Kapitel 3.3).

Aus Tabelle 3.19 geht hervor, dass die Versuchsgräser ihre Fe-Konzentrationen in Spross und Wurzel (Anlage 15) trotz Zugabe an verfügbarem Fe nicht erhöhten. Im Trend lässt sich sogar ein

leichter Rückgang erkennen. Für sich betrachtet scheint dieses Pflanzenverhalten recht ungewöhnlich, doch stiegen durch die Zugabe des Fe-Chelates die Sprossgehalte eines anderen Mikronährstoffes des Zn eindeutig an (Tabelle 3.19, Das gilt auch für die Referenzpflanze *Avena sativa* (siehe Anlage 15)). Gemessen an den Referenzwerten aus der Literatur (Tabelle 3.19) verursachte die höhere Zn-Aufnahme eine Verbesserung der Zn-Versorgung für die Versuchsgräser. Der leichte Rückgang der Fe-Aufnahme durch Zugabe des Fe-Chelates war dagegen überraschend. Er fand innerhalb „normaler“ Versorgungsgrenzen statt. Weitere Betrachtungen der Beziehung zwischen Fe- und Zn-Aufnahme der Pflanze folgen in der Diskussion. Die Mn-Versorgung war überdies von der Fe-Düngung nicht beeinflusst worden und blieb mangelhaft.

Tabelle 3.19: Gefäßversuch B Teil 2 - Mineralelementkonzentrationen (Ca, Mg, P, K, Na, Fe, Mn, Zn) im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach Fe-Düngung und Blattapplikation von 2-Aminoethanol bei P-Exzess im Boden

Mineralelementkonzentration im Spross [µg g ⁻¹ Spross-TM]							
	<i>Arrhenatherum elatius</i>			<i>Elymus repens</i>			Referenzwerte
	Kontrolle	Fe	2AE	Kontrolle	Fe	2AE	
Ca	8187	8624	8736	13426	14830	14569	5000-10000 ¹⁾
Mg	4266 ^b	4869 ^d	4883 ^d	3395 ^b	3154 ^a	3227 ^b	2000-3000 ¹⁾
P	3446	3771	3598	4745	5058	4837	3500-6000 ¹⁾
K	30720	29901	27885	23439	23691	22206	45000-58000 ¹⁾
Na	196	157	162	296	337	316	40-2000 ¹⁾
Fe	140	101	134	359	325	333	50-800 ²⁾
Mn	19	20	21	33	32	32	40-100 ¹⁾
Zn	24 ^a	29 ^b	24 ^a	40	70	40	25-70 ¹⁾

Fe-Variante 2,4 mg Fe kg⁻¹ BoTM als Fe-Chelat (Fe(III)-EDTA) gedüngt, 2-Aminoethanol (2AE) 4 mg dm⁻² als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; Unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikant-unterschiedliche Mittelwerte (a<b<c<d; P<0,05) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test). Die zugrunde liegenden Mittelwerte ± Standardabweichung sind in Anlage 15 und Anlage 16 aufgeführt. Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprosschieben.

¹⁾ ... Sprossgehalte von *Avena sativa* nach Bestockung zu Beginn des Sprossschiebens aus Bergmann (1992)

²⁾ ... Fe-Gehalte grüner Pflanzenteile 50-200 µg g⁻¹ PfTM; Gräser ferrophil, bis 800 µg g⁻¹ PfTM möglich (Bergmann, 1992)

Der Einfluss der 2AE-Applikation auf den Mineralelementstatus der untersuchten Gräser war bei der Ca- und Mg-Aufnahme mit Fe-Chelat vergleichbar (Tabelle 3.19). Bei der Zn-Aufnahme war im Unterschied zur Fe-Düngung nach 2AE-Applikation keine Wirkung festgestellt worden.

Des Weiteren bewirkte die Fe-Applikation in allen Versuchsgräsern (Tabelle 3.19 und Anlage 15) eine leichte Zunahme der Ca- und P-Aufnahme. Diese Zunahmen lagen aber noch innerhalb der Referenzwerte (Tabelle 3.19) und damit kann auch in dieser Versuchsvariante nicht mit einer erhöhten P-Stressbelastung durch eine hohe P-Aufnahme gerechnet werden. Allerdings wirkte das Fe-Chelat auch nicht über die Beeinflussung der P-Aufnahme stressmildernd. Die Boden-pH-Werte unterschieden sich in beiden Versuchsvarianten nicht von der Kontrolle (Anlage 17). Sie lagen unverändert im leicht alkalischen Bereich bei pH 7,5.

Bei den Elementproportionen im Spross (Konzentrationsverhältnisse) verschob die Anwendung des Fe-Chelates (Tabelle 3.20) sowohl durch die bessere Zn-Aufnahme als auch durch die geringere Fe-

Aufnahme das Fe/Zn-Verhältnis deutlich zum Zn hin. Auch das Zn/P-Verhältnis verschob sich zu Gunsten des Zn, trotz leichter P-Zunahme. Der Zuwachs an Zn war größer als der an P. Das ungünstige Mn/P-Verhältnis verschlechterte sich dagegen noch weiter durch die P-Zunahme, wie auch das K/P-Verhältnis. Das Ca/Mg- und das Ca/P-Verhältnis waren weitgehend stabil in den Versuchsvarianten. Ein deutlicher Einfluss der 2AE-Applikation auf die Element-Verhältnisse konnte im *Gefäßversuch B* nicht festgestellt werden.

Tabelle 3.20: *Gefäßversuch B* Teil 2 – Physiologisch interessante Konzentrationsverhältnisse von Elementen im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach Fe-Düngung und Blattapplikation von 2-Aminoethanol bei P-Exzess im Boden

Verhältnis	Mineralelementverhältnisse						Schwankungsbereich der Referenzwerte ¹⁾
	<i>Arrhenatherum elatius</i>			<i>Elymus repens</i>			
	Kontrolle	Fe	2AE	Kontrolle	Fe	2AE	
Ca/Mg	1:0,5	1:0,6	1:0,6	1:0,3	1:0,2	1:0,2	1:0,2 – 1:0,6
Ca/P	1:0,42	1:0,44	1:0,41	1:0,35	1:0,34	1:0,33	1:0,35 – 1:1,2
K/P	1:0,11	1:0,13	1:0,13	1:0,20	1:0,21	1:0,22	1:0,06 – 1:0,13
Na/K	1:160	1:190	1:170	1:80	1:70	1:70	1:23 – 1:1450
Fe/P	1:25	1:37	1:27	1:13	1:16	1:15	1:4 – 1:120
Mn/P	1:180	1:190	1:170	1:150	1:160	1:150	1:35 – 1:150
Zn/P	1:140	1:130	1:150	1:120	1:70	1:120	1:5 – 1:240
Zn/Fe	1:6	1:3	1:7	1:9	1:5	1:8	1:0,7 – 1:20

Die Elementverhältnisse wurden mit Daten aus Anlage 15 und Anlage 16 berechnet. Fe-Variante 2,4 mg Fe kg⁻¹ BoTM als Fe-Chelat (Fe(III)-EDTA) gedüngt, 2-Aminoethanol (2AE) 4 mg dm⁻² als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben.

¹⁾ ... Die Referenzwerte sind in Tabelle 3.19 aufgeführt.

3.4.2. Wirkung von Fe-Chelat und 2-Aminoethanol auf Produktivität und Stressantwort applizierter Gräser

Auch die Fe- und die 2AE-Variante des *Gefäßversuches B* bewirkten trotz des enormen N_{min}-Defizits im Boden Steigerungen der Biomasse (Tabelle 3.21 und Abbildung 3.18).

Tabelle 3.21: *Gefäßversuch B* Teil 2 - Änderung der Spross- und Wurzeltrockenmasse von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach Fe-Düngung und Blattapplikation von 2-Aminoethanol bei P-Überschuss im Boden

	Trockenmasse [g dm ⁻²]			
	<i>Arrhenatherum elatius</i>		<i>Elymus repens</i>	
	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
Kontrolle	1,01	2,03	0,69	1,27
Fe-Chelat	1,11	2,18	0,66	1,41
2-Aminoethanol	1,09	2,16	0,75	1,26

Fe-Variante 2,4 mg Fe kg⁻¹ BoTM als Fe-Chelat (Fe(III)-EDTA) gedüngt, 2-Aminoethanol (2AE) 4 mg dm⁻² als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben. Die zugrunde liegenden Mittelwerte ± Standardabweichung sind in Anlage 17 aufgeführt.

Der Anstieg betrug bei Fe 10-20 % und bei 2AE ca. 10 % zumeist in Spross und Wurzel der untersuchten Gräser gleichermaßen.

Da die Zunahme an Biomasse stressmindernde Wirkungen des Fe-Chelates und des Stresstoleranz-aktivators 2AE auf Boden mit P-Exzess aus morphologischer Sicht nahe legten, ist nun nachfolgend zu klären, ob diese morphologischen Effekte auch mit physiologisch-biochemischen Reaktionen nach Fe-Chelat- und 2AE-Anwendung verklammert werden können.

Die Tabelle 3.22 zeigt dazu die Untersuchungsergebnisse für die Messgröße *freies* Prolin im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens*. Als Ergänzung ist das lösliche Protein nach Bradford bestimmt wurden. Um mögliche Verzerrungen durch das N_{\min} -Defizit im Boden auszuschließen, wurde auch hier in Teil 2 des *Gefäßversuches B* das Prolin-N/Protein-N-Verhältnis berechnet. Für beide Gräser ließ sich so die stressreduzierende Wirkung des Fe-Chelates anhand der Prolin/Protein-Verhältnisse zweifelsfrei nachweisen. Der Anteil des Stressindikators *freies* Prolin verringerte sich deutlich bei beiden Spezies im Verhältnis zum löslichen Protein. Für 2AE ließen die N-abhängigen Messgrößen keine eindeutigen Aussagen zu (Tabelle 3.22, Anlage 17).

Tabelle 3.22: *Gefäßversuch B* Teil 2 – Konzentration an *freiem* Prolin und löslichem Protein sowie Prolin-N/Protein-N-Verhältnis im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach Düngung von Fe und Blattapplikation von 2-Aminoethanol

	<i>Arrhenatherum elatius</i>			<i>Elymus repens</i>		
	Kontrolle	Fe	2AE	Kontrolle	Fe	2AE
<i>Freies</i> Prolin ¹⁾ [$\mu\text{mol g}^{-1}$ Spross-TM]	1,04	1,01	1,03	0,94	0,80	1,20
Lösliches Protein ²⁾ [mg g^{-1} Spross-TM]	6,53	9,77	7,34	4,25	4,26	3,79
Prolin-N/Protein-N- Verhältnis [m:m]	1:70	1:110	1:80	1:50	1:60	1:40

Fe-Variante 2,4 mg Fe kg^{-1} BoTM als Fe-Chelat (Fe(III)-EDTA) gedüngt, 2-Aminoethanol (2AE) 4 mg dm^{-2} als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprosschieben. Die zugrunde liegenden Mittelwerte \pm Standardabweichung sind in Anlage 17 und Anlage 18 aufgeführt.

¹⁾ ... *freies* Prolin nach Bates *et al.* (1974)

²⁾ ... lösliches Protein nach Bradford (1976)

Wie unter Kapitel 3.3.3 begründet sollen nun auch hier die SOD-Isoenzymaktivitäten als Indikatoren des oxidativen Stress oder der Stressminderung näher betrachtet werden. Besonders spannend ist in diesem Zusammenhang der Einfluss einer Erhöhung mobiler Fe-Ionen im Boden für die Pflanzenernährung.

Tatsächlich ergaben die Analysen, dass die Fe-Chelat-Anwendung auf der morphologischen und biochemischen Ebene, trotz nicht angestiegener Fe-Konzentration im Pflanzenmaterial (Tabelle 3.19), deutliche Pflanzenreaktionen. Im Falle der analysierten SOD-Aktivitäten (Abbildung 3.19 und Anlage 18 im Anhang) verursachte die Fe-Chelat-Anwendung vorrangig bei *Elymus repens* einen SOD-Aktivitätsanstieg in der Wurzel (gleicher Trend bei *Arrhenatherum elatius*). Im Spross von *Elymus repens* war diese Wirkung nur noch abgeschwächt analytisch nachvollziehbar. Im Spross von *Arrhenatherum elatius* waren die SOD-Isoenzyme nicht eindeutig nachweisbar, deshalb wurde auf die

Auswertung hier verzichtet. Im später noch zu besprechenden Freilandversuch (Abbildung 3.22) bestätigte sich aber dennoch auch im Spross von *Arrhenatherum elatius* der SOD-Aktivitätsanstieg bei Fe-Chelat-Einsatz.

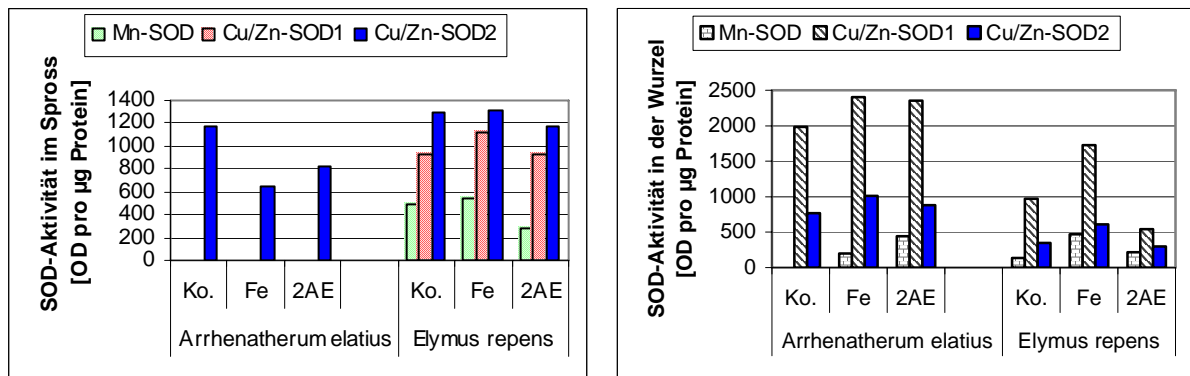


Abbildung 3.19: Gefäßversuch B Teil 2 - SOD-Isoenzym-Aktivitäten (densitometrische Auswertung) in Spross und Wurzel von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach Applikation von Fe als Chelat und 2-Aminoethanol (2,4 mg Fe kg⁻¹ BoTM gedüngt und 4 mg 2AE dm⁻² als wässrige 10 mM Lösung aufgesprüht), die Kontrollen (Ko.) waren unbehandelt

Generell hatte die Cu/Zn-SOD₂ die höhere Aktivität im Spross und die Cu/Zn-SOD₁ wies in der Wurzel höhere Aktivitäten auf. Fe-Chelat hatte also eine stressmodulierende Wirkung, die aber nicht geradlinig über Fe-Anreicherung in der Pflanzenzelle, sondern vermutlich über die Peroxidase-Katalase-Schleife sowie auch über den Umweg Zn realisiert wird. Neue künftige molekularbiologische Untersuchungen sollten solche Regulationseffekte (Signaling) mit bedenken.

Anmerkung zur Peroxidase-Katalase-Schleife: Die Enzymaktivitäten der Peroxidase (EC 1.11.1.7) und der Katalase (EC 1.11.1.6) korrelieren in Pflanzen positiv mit der Fe-Versorgung (Bergmann, 1992). Eine konstitutionelle Enzymrückkopplung eines oder beider Enzyme mit der SOD (EC 1.15.1.1) könnte diese ebenfalls in ihrer Aktivität gesteigert haben.

Auch bei den SOD-Aktivitäten war die 2AE-Applikation wenig aussagekräftig. Interessanterweise induzierte 2AE aber in der Wurzel von *Arrhenatherum elatius* die in der Kontrollvariante fehlende Mn-SOD.

Durch Anwendung von Fe-Chelat und 2AE wurden SOD-Aktivitäten im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollvarianten auf Boden mit P-Exzess und N_{min}-Mangel moduliert. Bei der Bewertung veränderter SOD-Aktivitäten ist nun davon auszugehen, dass eine Erhöhung der SOD-Aktivitäten 1. eine Sofort- und Kurzzeitreaktion auf (oxidativen) Stress (Alarmreaktion) oder 2. einen vorbeugenden stimulierten Alarmzustand durch Effektoren (z.B. Fe-EDTA, 2AE) in der Pflanze darstellten. Eine Verminderung der SOD-Aktivitäten aber 3. das Resultat einer bereits erfolgten Stressbewältigung (z.B. Adaptation, Resistenzinduktion durch Wirkstoffe) im Sinne von mittel- und langfristigen Pflanzenreaktionen sein kann.

Für die Untersuchungen des *Gefäßversuches B* Teil 2 kann abschließend festgehalten werden, dass die Anwendung von Fe-Chelat in den Versuchsgräsern auf Boden vom Standort „Steudnitz“ (P-Exzess, N_{min}-Mangel, CaCO₃-reich) deutlich positiv wirkte. Eine 2AE-Wirkung konnte dagegen nicht zweifelsfrei nachgewiesen werden.

3.5. Freilanduntersuchung zu Möglichkeiten der produktivitätswirksamen Stressbeeinflussung in Gräsern bei hohen P-Überschüssen und niedrigen N_{min}-Konzentrationen im Boden – Versuch C

Auf der Grundlage von bodenchemischen Untersuchungen eines immissionsbelasteten Standortes wurden zur Wirkungsauklärung von möglichen bodenchemischen Belastungsfaktoren in dieser Arbeit zunächst Gefäßversuche mit Sandsubstrat in Klimakammern durchgeführt (*Gefäßversuch A*). Da den Bodenuntersuchungen zufolge ein enormer P-Überschuss emissionsbedingt im Oberboden festgestellt wurde und die Rolle eines enormen P-Überschusses auf Pflanzenwachstum, Produktivität, Stoffwechsel, Resistenzen, Konkurrenzverhalten und Biodiversitätsabläufe über das Literaturstudium nicht geklärt werden konnte, war in *Gefäßversuch A* die Wirkung eines gestaffelten Angebotes an pflanzenverfügbaren P studiert wurden. In einem zweiten Versuchsschritt (*Gefäßversuch B*) wurde anstelle des Sandsubstrates der am untersuchten Belastungsstandort vorgefundene Boden in Gefäßversuchen auf biologische Wirkungen bei standort-dominanten Gräsern untersucht, um die Gültigkeit der auf Sandsubstrat gewonnen Erkenntnisse zu prüfen und zugleich Remediationseingriffe zusätzlich zu erproben. In einem letzten Schritt (*Versuch C*) wird jetzt das Gefäßversuchsprogramm auf einen Kleinparzellenversuch übertragen (Abbildung 3.20). Damit sollten Möglichkeiten und Grenzen der Übertragbarkeit von Laborversucherkenntnissen ausgelotet wurden und realisierbare Schritte für die Phytoremediation von belasteten Ökosystemen mit ähnlicher Immission abgeleitet werden.

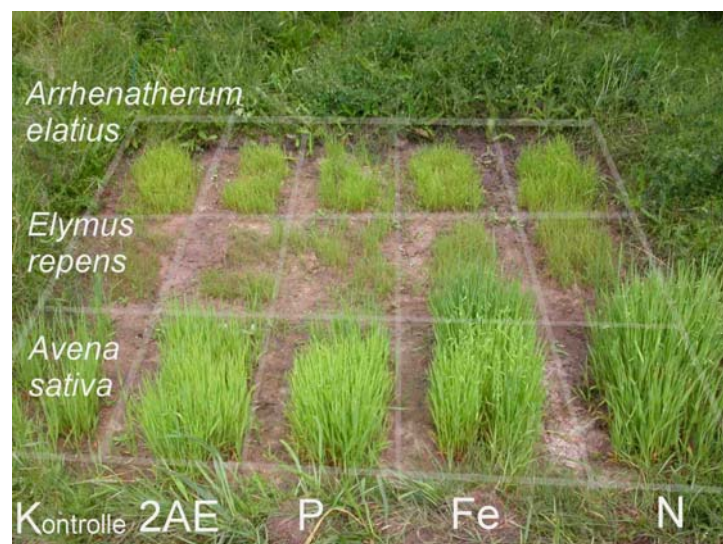


Abbildung 3.20: Versuch C – Foto der Versuchsfläche am Standort „Steudnitz“

In *Versuch C* (Abbildung 3.20) wurden erneut die Gräser *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und die Referenzpflanze *Avena sativa* an einer ausgewählten Stelle im Untersuchungsgebiet „Steud-

nitz“ ausgesät und dem Versuchsschema des *Gefäßversuches B* entsprechend (Kapitel 2.3.2) folgende Versuchsvarianten in den Freilandversuch aufgenommen: 1. unbehandelt = Kontrolle, 2. NH_4NO_3 -Düngung ($7,0 \text{ g N m}^{-2}$), 3. Fe-Chelat-Düngung (84 mg Fe m^{-2} als Fe(III)-EDTA), 4. K_2HPO_4 -Düngung ($4,9 \text{ g P m}^{-2}$), 5. 2-Aminoethanol (2AE) im Zweiblattstadium als wässrige 10 mM Lösung ($0,4 \text{ g 2AE m}^{-2}$) aufgesprüht (Abbildung 3.20). Die Ernte der Gräser erfolgte, wie schon in den Gefäßversuchen nach der Bestockung vor dem Sprossschieben, jedoch war die Entwicklungszeit unter den natürlichen, nicht optimierten Bedingungen des Freilandes mit 11 Wochen etwa doppelt so lang wie im Klimaschrank. Im Anschluss an die Ernte wurden die Versuchsgräser anhand der nachfolgenden Parameter auch auf ihr Stressverhalten untersucht.

3.5.1. Wirkung stressbeeinflussender Maßnahmen auf die Elementaufnahme untersuchter Gräser im Freiland

Auch in *Versuch C* im Freiland wurden die Spross- und Wurzelproben in der Mikrowelle aufgeschlossen, um die Elementgehalte in der ICP-OES zu bestimmen. Ob und wie die Elemente in den Pflanzen durch die angewandten Maßnahmen zur Stressverringerung unter Freilandbedingungen beeinflusst wurden, soll jetzt anschließend ausgewertet werden. Die Elementanalysen wurden wieder auf die Makroelemente Ca, Mg, P, K und Na sowie auf die Mikroelemente Fe, Mn und Zn begrenzt (siehe Tabelle 3.23). Das durch die Emissionen im Untersuchungsgebiet ebenfalls freigesetzte und analysierte Cd wird in Kapitel 3.6 gesondert besprochen.

Tabelle 3.23: Versuch C - Mineralelementkonzentrationen (Ca, Mg, P, K, Na, Fe, Mn, Zn) im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach N- und P-Düngung im Freiland mit P-Überschuss im Boden

	Mineralelementkonzentration im Spross ¹⁾ [µg g ⁻¹ Spross-TM]						Bodenelement- gehalte [mg kg ⁻¹ BoTM]
	<i>Arrhenatherum elatius</i>			<i>Elymus repens</i>			
	Kontrolle	N	P	Kontrolle	N	P	
Ca	7177	4063	6437	12601	7765	6614	192547
Mg	2015	1930	2149	1970	1561	1484	2784
P	4042	3829	5029	4799	4067	4371	85319
K	10968 ^a	12273 ^a	14580 ^b	10545 ^a	13668 ^b	14433 ^b	5588
Na	643 ^a	1847 ^b	1668 ^b	419 ^a	422 ^a	875 ^b	7085
Fe	614	660	543	667	517	560	5645
Mn	87	88	79	82	79	81	324
Zn	26	24	30	47 ^b	25 ^a	30 ^{ab}	73

Düngung pro m^2 Fläche: $7,0 \text{ g N}$ als NH_4NO_3 , $4,9 \text{ g P}$ als K_2HPO_4 ; Unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikant-unterschiedliche Mittelwerte ($a < b$; $P < 0,05$) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test). Die zugrunde liegenden Mittelwerte \pm Standardabweichung sind in Anlage 19 und Anlage 20 aufgeführt. Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben.

¹⁾ ... Referenzwerte für Pflanzengehalte siehe Tabelle 3.24

Die bodenchemischen Bedingungen am Standort „Steudnitz“ selbst waren wie im Gefäßboden von hohen P-Überschüssen (159 mg P kg^{-1} BoTM pflanzenverfügbar als *Olsen P*) bei gleichzeitig hohen

Ca- und Na-Gehalten geprägt (Tabelle 3.23). Dazu herrschte mit $5,8 \text{ mg N}_{\min} \text{ kg}^{-1}$ BoTM auch ein N_{\min} -Defizit im Boden (Kapitel 3.1.2.3). Der pH-Wert im Boden lag im leicht alkalischen Bereich um pH 7,2.

Anders als im begrenzten Bodenvolumen des Gefäßversuches verfügten die Gräser im Freiland über einen potentiell größeren Wurzelraum. Die Mehrzahl der analysierten Elemente Ca, Mg, Na, P (!), Fe und Mn im *Versuch C* lag verglichen mit Referenzwerten aus der Literatur (Tabelle 3.24) innerhalb normaler Konzentrationsbereiche für Gräser. Die P-Konzentrationen in den Pflanzen aus dem Freiland lagen so in Übereinstimmung mit den Befunden aus *Gefäßversuch B*. Auch im Freiland war damit eine erhöhte Stressbelastung durch eine zu hohe P-Aufnahme auszuschließen. Die Mn-Aufnahme in *Versuch C* erhöhte sich im Vergleich zum Gefäß um das Drei- bis Vierfache, so dass alle Versuchsgräser in Abweichung zum *Gefäßversuch B* optimale Mn-Konzentrationen aufwiesen (Tabelle 3.24 und Anlage 20 im Anhang).

Tabelle 3.24: *Versuch C* - Mineralelementkonzentrationen (Ca, Mg, P, K, Na, Fe, Mn, Zn) im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach Fe-Düngung und nach Blattapplikation von 2-Aminoethanol (2-AE) im Freiland mit P-Überschuss im Boden

Mineralelementkonzentration im Spross [µg g ⁻¹ Spross-TM]							
	<i>Arrhenatherum elatius</i>			<i>Elymus repens</i>			Referenzwerte
	Kontrolle	Fe	2AE	Kontrolle	Fe	2AE	
Ca	7177	8350	7496	12601	11158	12689	5000-10000 ¹⁾
Mg	2015	2135	2101	1970	1917	1888	2000-3000 ¹⁾
P	4042	4155	4462	4799	4648	5459	3500-6000 ¹⁾
K	10968	11666	12915	10545	12003	12314	45000-58000 ¹⁾
Na	643	739	615	419	494	670	40-2000 ¹⁾
Fe	614	724	629	667	830	975	50-800 ²⁾
Mn	87	97	81	82	99	109	40-100 ¹⁾
Zn	26	27	25	47	33	30	25-70 ¹⁾

Applikation pro m^2 Fläche: 0,084 g Fe als Fe-Chelat (Fe(III)-EDTA) gedüngt, 0,4 g 2-Aminoethanol als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; Die zugrunde liegenden Mittelwerte \pm Standardabweichung sind in Anlage 19 und Anlage 20 aufgeführt. Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprosssschieben.

¹⁾ ... Sprossgehalte von *Avena sativa* nach Bestockung zu Beginn des Sprosssschiebens aus Bergmann (1992)

²⁾ ... Fe-Gehalte grüner Pflanzenteile 50-200 $\mu\text{g g}^{-1}$ PftM; Gräser ferrophil, bis 800 $\mu\text{g g}^{-1}$ PftM möglich (Bergmann, 1992)

Nicht optimal versorgt waren alle Versuchgräser mit dem Nährstoff K (Tabelle 3.23, Tabelle 3.24 sowie Anlage 19), dessen Sprosskonzentrationen in *Versuch C* nur auf die Hälfte der Konzentrationen in *Gefäßversuch B* kamen. Als Kompensationsreaktion dieser schlechteren Versorgung waren die dreifach erhöhten Na-Konzentrationen zu bewerten. *Arrhenatherum elatius* nahm dabei mehr Na auf als *Elymus repens* und schien daran gemessen generell stärker von der geringen K-Versorgung betroffen. Ebenfalls schlechter versorgt waren insbesondere *Arrhenatherum elatius* (Tabelle 3.23) und die Referenzpflanze *Avena sativa* (Anlage 16 im Anhang) mit Zn. Ein negativer Einfluss hoher Boden-P-Gehalte, d.h. eine Stresswirkung durch die Störung der Zn-Versorgung (Kapitel 1.2), ist hier ebenso wie in *Gefäßversuch B* denkbar. Das N_{\min} -Defizits des Bodens begrenzte den N-Gehalt von Gräsern am Standort „Steudnitz“ auf nicht optimale Werte von 2-3% in der TM (Friedrich, 2002). Bei

ausreichender N-Versorgung sind Gehalte von 5-6% N in der TM zu finden (Auf eigene Analysen des N in den Versuchsgräsern wurde aufgrund der sehr ausführlichen Untersuchungen früherer Arbeiten verzichtet.).

In *Versuch C* veränderten die angewandten Maßnahmen zur Stressbeeinflussung die Mineral-elementaufnahme der Versuchsgräser wie folgt. Die N-Düngung erhöhte im Vergleich zur Kontrolle die K-, aber auch die Na-Konzentration in Spross (Tabelle 3.23) und Wurzel (Anlage 19 im Anhang) der untersuchten Gräser überwiegend signifikant (Einfaktorielle ANOVA, $P < 0,05$). Zu einer wesentlichen Verbesserung der K-Versorgung gemessen an den Referenzwerten der Literatur reichten die Steigerungen dennoch nicht. Die ohnehin niedrige Zn-Aufnahme wurde durch das stärkere Wachstum bei N-Düngung im Spross aller drei Spezies noch weiter gesenkt. Darüber hinaus gab es weitere Verdünnungseffekte ohne Bedeutung für die Versorgung bei Ca, Mg und P in Spross und Wurzel aller drei Spezies.

Die P-Zusatzdüngung als K_2HPO_4 -Salz erhöhte wie die N-Düngung die Aufnahme von K und Na in Spross und Wurzel signifikant. Eine im Vergleich zur Kontrolle vermutete Erhöhung des P-Gehaltes durch die zusätzliche P-Gabe konnte in den Versuchsgräsern nicht festgestellt werden (Tabelle 3.23). Auch die im *Gefäßversuch B* beobachteten Wirkungen auf die untersuchten Mikro-nährstoffe Fe, Mn und Zn fanden bei P-Zusatzdüngung im Freiland vermutlich aufgrund des größeren Bodenvolumens nicht statt.

Tabelle 3.25: *Versuch C* - Ausgewählte Elementverhältnisse im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach stressbeeinflussenden Maßnahmen bei P-Exzess im Boden

Mineralelementverhältnisse						Schwankungsbereich der Referenzwerte ¹⁾
Verhältnis	Kontrolle	N	P	Fe	2AE	
<i>Arrhenatherum elatius</i>						
K/P	1:0,37	1:0,31	1:0,34	1:0,36	1:0,35	1:0,06 – 1:0,13
Na/K	1:17	1:7	1:9	1:16	1:21	1:23 – 1:1450
Fe/P	1:7	1:6	1:9	1:6	1:7	1:4 – 1:120
Mn/P	1:47	1:44	1:64	1:43	1:55	1:35 – 1:150
Zn/P	1:150	1:160	1:170	1:160	1:180	1:5 – 1:240
<i>Elymus repens</i>						
K/P	1:0,46	1:0,30	1:0,30	1:0,39	1:0,44	1:0,06 – 1:0,13
Na/K	1:25	1:32	1:16	1:24	1:18	1:23 – 1:1450
Fe/P	1:7	1:8	1:8	1:6	1:6	1:4 – 1:120
Mn/P	1:59	1:51	1:54	1:47	1:50	1:35 – 1:150
Zn/P	1:100	1:160	1:150	1:140	1:180	1:5 – 1:240

Die Elementverhältnisse wurden mit Daten aus Anlage 19 und Anlage 20 berechnet. Applikation pro m² Fläche: 7,0 g N als NH_4NO_3 gedüngt, 4,9 g P als K_2HPO_4 gedüngt, 0,084 g Fe als Fe-Chelat (Fe(III)-EDTA) gedüngt, 0,4 g 2-Aminoethanol als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben.

¹⁾ ... Die Referenzwerte sind in Tabelle 3.24 aufgeführt.

Die Wirkung von Fe-Chelat (Tabelle 3.24) wich im Freiland von den Ergebnissen des Gefäßversuches ab. Während die Zn-Konzentrationen im Spross unverändert blieben, erhöhte Fe-Chelat im

Versuch C die Fe- aber auch die Mn-Konzentrationen im Spross aller Spezies. Die 2AE-Applikation wirkte positiv auf die Aufnahme von Ca, P und K.

Neben der Elementverteilung in den untersuchten Spezies wurden auch ausgewählte Konzentrationsverhältnisse zwischen den Elementen vor allem im Spross näher betrachtet (Tabelle 3.25). Aufgrund der geringen K-Gehalte der Pflanzen in *Versuch C* wurden zwei K-abhängige Verhältnisse K/P und Na/K ausgewertet. Für das K/P-Verhältnis konnte trotz Erhöhung der K-Konzentration durch den Einsatz der stressbeeinflussender Maßnahmen N- und P-Düngung und 2AE-Applikation keine Verbesserung in den untersuchten Gräsern erreicht werden, da diese Maßnahmen gleichzeitig auch die P-Konzentration erhöhten. Im Gegensatz dazu stand das Na/K-Verhältnis, das mit 2AE-Applikation in *Arrhenatherum elatius* und mit N-Düngung in *Elymus repens* deutlich verbessert werden konnte. Die Verhältnisse der untersuchten Mikronährstoffe Fe, Mn und Zn mit P waren in *Versuch C* anders als in den vorangegangenen Gefäßversuchen relativ ausgeglichen und bewegten sich innerhalb "normaler" Schwankungen (Tabelle 3.25).

3.5.2. Einfluss von N, P, Fe-Chelat und 2-Aminoethanol auf Produktivität und Stressantwort untersuchter Gräser im Freiland

Von den stressbeeinflussenden Maßnahmen hatte auch im Freiland (*Versuch C*) die N-Düngung wieder den stärksten Effekt auf die Biomassebildung der Versuchsgräser (Tabelle 3.26, Abbildung 3.20). In *Elymus repens* erhöhte sich dabei die Sprossmasse auf das Dreifache (300 %) im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (100 %).

Tabelle 3.26: *Versuch C* – Sprosstrockenmasse von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* bei P-Überschuss im Boden nach Düngung von N, P, Fe-Chelat und Blattapplikation von 2-Aminoethanol

	Trockenmasse [g m ⁻²]				
	Kontrolle	N	P	Fe-Chelat	2-Aminoethanol
<i>Arrhenatherum elatius</i>	146	182 ⁺	119	161	118
<i>Elymus repens</i>	38	120 ^{**}	41	79 [*]	49

Düngung/Applikation pro m² Fläche: 7,0 g N als NH₄NO₃ gedüngt, 4,9 g P als K₂HPO₄ gedüngt, 0,084 g Fe als Fe-Chelat (Fe(III)-EDTA) gedüngt, 0,4 g 2-Aminoethanol als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; Die zugrunde liegenden Mittelwerte ± Standardabweichung sind in Anlage 21 aufgeführt.

** ... signifikanter Mittelwertunterschied zur Kontrolle P<0,01 nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test)

* ... signifikanter Mittelwertunterschied zur Kontrolle P<0,05 nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test)

+ ... Mittelwertunterschied zur Kontrolle P<0,1 (Trend) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test)

Bei *Arrhenatherum elatius* betrugen die Zuwächse im Spross ein Viertel (125 %). Umgekehrt betrachtet, bestätigten diese Biomassesteigerungen nach N-Gabe erwartungsgemäß die negative Wirkung des N_{min}-Mangels im Boden auch im Freiland. Die P-Zusatzdüngung wirkte dagegen in *Versuch C* negativ auf die Sprossbiomassebildung von *Arrhenatherum elatius*. *Elymus repens*, die sich schon in *Gefäßversuch A* toleranter gegenüber P-Überschuss im Boden zeigte, hielt im Freiland die Sprossmasse konstant.

Auch für die Düngung mit Fe-Chelat (Fe(III)-EDTA) konnte im Freiland eine deutlich positive Wirkung auf das Wachstum festgestellt werden. Die Zuwächse im Spross blieben zwar mit Verdopplung (200 %) in *Elymus repens* und 110 % in *Arrhenatherum elatius* hinter denen der N-Düngung zurück (Tabelle 3.26). Sie waren aber unter dem gegebenen N_{\min} -Defizit im Boden immer noch beachtlich. Die Wirkung der 2AE-Applikation auf die Sprossbiomasse war im Freiland nicht einzuschätzen.

Nachdem die morphologischen Veränderungen nun auch in *Versuch C* auf stressbeeinflussende Wirkungen von N-, P- und Fe-Düngung hinwiesen, sollten die Maßnahmen hier ebenfalls wieder mit dem Stressindikator *freies* Prolin und der durch den oxidativen Stress modifizierbaren SOD-Enzymaktivität überprüft werden. Da in *Versuch C* ebenfalls das N_{\min} -Defizit im Boden zu berücksichtigen war, wurde *freies* Prolin wie schon in *Gefäßversuch B* nicht isoliert betrachtet, sondern in Verbindung mit dem löslichen Protein auch hier das Prolin-N/Protein-N-Verhältnis berechnet (Tabelle 3.27).

Tabelle 3.27: *Versuch C* – Konzentration an *freiem* Prolin und löslichem Protein sowie Prolin-N/Protein-N-Verhältnis im Spross von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach Düngung von N, P, Fe-Chelat und Blattapplikation von 2-Aminoethanol

	<i>Arrhenatherum elatius</i>					<i>Elymus repens</i>				
	Kon- trolle	N	P	Fe	2AE	Kon- trolle	N	P	Fe	2AE
<i>Freies</i> Prolin ¹⁾ [$\mu\text{mol g}^{-1}$ Spross-TM]	1,78	2,28	4,26	3,02	2,95	4,49	10,54	6,86	5,58	4,44
Lösliches Protein ²⁾ [mg g^{-1} Spross-TM]	9,86	10,34	8,76	3,69	15,11	8,80	10,05	15,87	14,37	12,30
Prolin-N/Protein-N- Verhältnis [m:m]	1:60	1:50	1:20	1:10	1:60	1:20	1:10	1:30	1:30	1:30

Applikation pro m^2 Fläche: 7,0 g N als NH_4NO_3 gedüngt, 4,9 g P als K_2HPO_4 gedüngt, 0,084 g Fe als Fe-Chelat (Fe(III)-EDTA) gedüngt, 0,4 g 2-Aminoethanol als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben. Die zugrunde liegenden Mittelwerte \pm Standardabweichung sind in Anlage 21 und Anlage 22 aufgeführt.

¹⁾ ... *freies* Prolin nach Bates *et al.* (1974)

²⁾ ... lösliches Protein nach Bradford (1976)

Für die N-Düngung konnte im Freiland (*Versuch C*) in beiden Versuchsgräsern tendenziell eine Zunahme von *freiem* Prolin und löslichem Protein gefunden werden (Tabelle 3.27). Der Anstieg löslichen Proteins im Vergleich zum *freien* Prolin, d.h. Prolin-N/Protein-N-Verhältnis, war anders als im Modellversuch (*Gefäßversuch B*) bei N-Düngung aber geringer. Bei den anderen Maßnahmen (P, Fe, 2AE) differierten die beiden Versuchsgräser. *Elymus repens* verbesserte die Prolin-N/Protein-N-Verhältnisse bei Fe-Düngung und 2AE-Applikation und zeigte sich gegenüber der P-Zusatzdüngung toleranter. *Arrhenatherum elatius* erhöhte bei P-Zusatzdüngung und bestehendem P-Exzess im Boden den Gehalt *freien* Prolins zu lasten des löslichen Proteingehaltes. Die 2AE-Anwendung steigerte im Freiland bei *Arrhenatherum elatius* beide gemessenen N-abhängige Parameter und das Verhältnis blieb gleich (Tabelle 3.27). Die Fe-Düngung verringerte den löslichen Proteingehalt.

Die Aktivitäten der SOD-Isoenzyme, als Maß des oxidativen Stress, waren unter N-Düngung in den Spross- und Wurzelgeweben der untersuchten Spezies *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens*

gemäß Abbildung 3.21 deutlich niedriger als in den Kontrollen. Damit wurde auch im *Versuch C* (Freiland) das N_{\min} -Defizit für das Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ durch die Stressabschwächung bei verbesserter N-Versorgung belegt. Das Gegenteil zeigten die Versuchsgräser nach P-Düngung (Abbildung 3.21 und Anlage 22 im Anhang). Hier erhöhten sich die SOD-Aktivitäten vor allem in der Wurzel und bei *Arrhenatherum elatius* auch im Spross durch die zusätzliche P-Gabe bei bestehendem P-Überschuss im Boden.

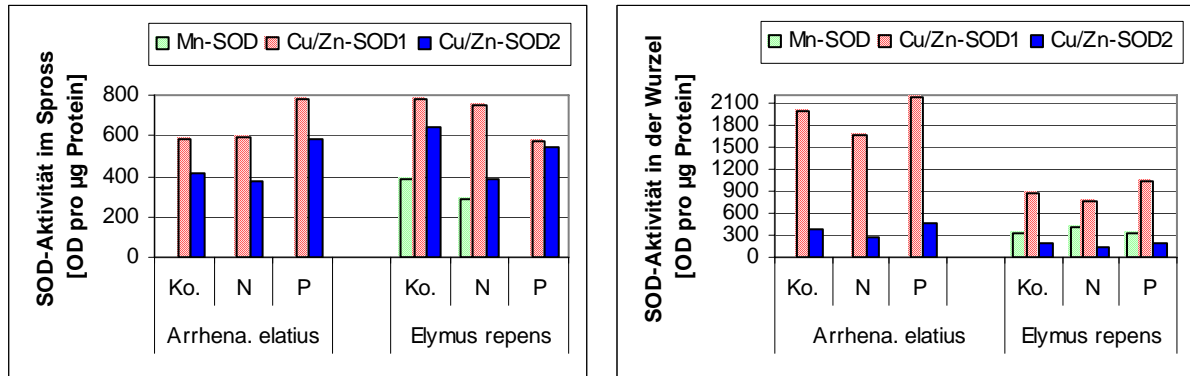


Abbildung 3.21: *Versuch C* – SOD-Isoenzym-Aktivitäten (densitometrische Auswertung) in Spross und Wurzel von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach Erhöhung verfügbaren N und P bei P-Exzess im Boden (pro m^{-2} Fläche: 7,0 g N, 4,9 g P, die Kontrollen blieben ungedüngt)

Die Düngung des Fe-Chelates (Fe-EDTA) erhöhte gemäß Abbildung 3.22 die SOD-Aktivitäten in *Versuch C* und bestätigte somit die im Modellversuch (*Gefäßversuch B*) gemachten Beobachtungen auch für das Freiland. Die Enzymrückkopplung von SOD-Aktivität mit der Peroxidase-Katalase-Schleife (siehe Kapitel 3.4.2) bei verbesserter Fe-Versorgung scheint auch im Freiland wirksam. Die 2-AE-Anwendung hatte in *Versuch C* keinen Einfluss auf die SOD-Aktivitäten. In allen Versuchsvarianten und allen Versuchsgräsern fiel auf, das Cu/Zn-SOD₁ im Freiland in allen Geweben von den SOD-Isoenzymen die höchste Aktivität aufwies, gefolgt von der Cu/Zn-SOD₂ und der Mn-SOD.

Die Chlorophyll-Fluoreszenz-Messung, eine nicht-invasive Methode den Stressstatus an lebenden Pflanzen zu bestimmen, brachte im Freiland (*Versuch C*) nicht die gleichen Resultate wie im Modellversuchen (*Gefäßversuche A und B*). Die starken Schwankungen der Werte im Freiland (siehe Anlage 21 im Anhang) ließen keine Muster zwischen den angewandten Maßnahmen zur Stressbeeinflussung erkennen. Obwohl diese Ergebnis primär nicht befriedigt, verdeutlichte es gerade die komplexen Einflüsse in einem realen Ökosystem und verweist auf die Notwendigkeit und die Vorteile die Bestimmung des Stressstatus nicht nur von einer Messgröße abzuleiten, sondern mehrere unabhängige Indikatoren zu messen, wie in dieser Arbeit mit *freiem* Prolin, Enzymaktivität des SOD-Komplexes und Chlorophyll-Fluoreszenz-Messung geschehen.

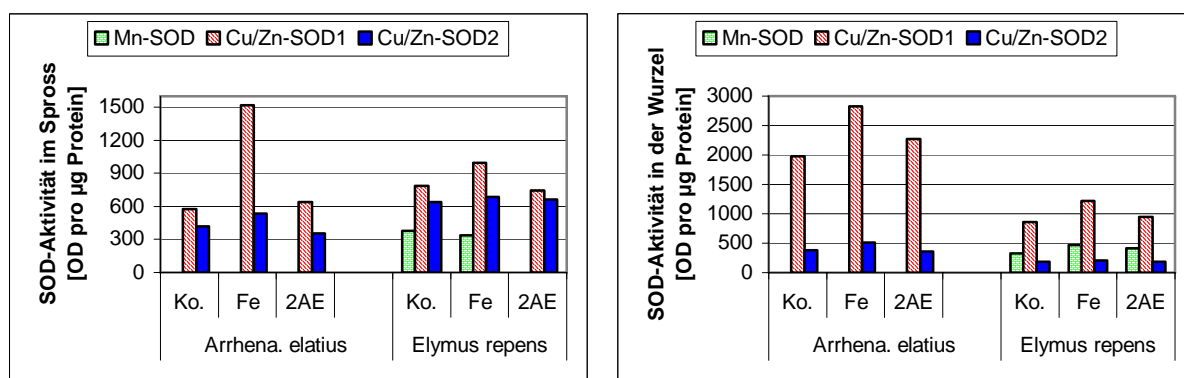


Abbildung 3.22: Versuch C – SOD-Isoenzym-Aktivitäten (densitometrische Auswertung) in Spross und Wurzel von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nach Düngung des Mikronährstoffes Fe als Chelat ($0,084 \text{ g Fe m}^{-2}$) und Aufsprühen des Stresstoleranzaktivators 2-Aminoethanol ($0,4 \text{ g 2AE m}^{-2}$ als wässrige 10 mM Lösung gesprüht im Zweiblattstadium, die Kontrollen blieben unbehandelt)

3.6. Die pflanzliche Cd-Aufnahme aus Boden vom Standort „Steudnitz“ und ihre Veränderung durch stressbeeinflussende Maßnahmen untersucht im Modellversuch (*Gefäßversuch B*) und im Freiland (*Versuch C*)

Die am Standort „Steudnitz“ durchgeführten Bodenuntersuchungen (siehe Kapitel 3.1) wiesen neben verschiedenen Elementbelastungen auch eine Erhöhung von Cd im Boden aus. Der Prüfwert für Flächen des Nahrungsmittelanbaus von $2 \text{ mg Cd kg}^{-1} \text{ BoTM}$ (BBodSchV, 2004) wurde dabei ebenso in allen Messpunkten deutlich überschritten wie auch der obere von Scheffer & Schachtschabel (2002) ausgewiesenen Bodenrichtwert von $5 \text{ mg Cd kg}^{-1} \text{ BoTM}$. Die bei den Pflanzenversuchen *B* und *C* eingesetzten Böden enthielten $12,6$ bzw. $12,2 \text{ mg Cd kg}^{-1} \text{ BoTM}$ (Tabelle 3.28).

Tabelle 3.28: Für die Cd-Problematik relevante bodenchemische Parameter von *Gefäßversuch B* und *Versuch C*

Boden	Mineralelementkonzentrationen [$\text{mg kg}^{-1} \text{ BoTM}$]						pH-Wert
	Cd	Fe	Mn	Zn	Ca	P	
<i>Gefäßversuch B</i>	12,6	8929	200	69	248073	46712	7,4
<i>Versuch C</i>	12,2	5645	324	73	192547	85319	7,2

Mineralelemente bestimmt nach Königswasseraufschluss; Alle untersuchten Bodenparameter sind detailliert in Anlage 3 und Anlage 4 aufgeführt.

Bei diesen erhöhten Cd-Gehalten im Boden war nun zu fragen, ob auch ein verstärkter Transfer aus dem Boden in die Pflanzen erfolgte. Daraus ließen sich dann Aussagen für ein Risiko des Cd-Eintrags in die Nahrungskette ableiten. Die pflanzliche Cd-Aufnahme hängt aber bekanntermaßen nicht allein vom Gesamtbodengehalt des Cd ab, sondern wird auch von bodenchemischen Eigenschaften wie pH-Wert, Salinität, Nährstoffangebot, Tonmineralgehalt und Gehalt an organischer Substanz bestimmt, aber auch von der speziesabhängigen Cd-Aufnahme der Pflanzen selbst (Machelett *et al.*, 1996; Gray

et al., 1999). Da in einem Teil dieser Arbeit ferner Maßnahmen zur Beeinflussung der Stressreaktion (wie N- und Fe-Düngung, 2AE-Applikation) untersucht wurden, sollten diese selbstverständlich auch in ihrer Wirkung auf die pflanzliche Cd-Aufnahme geprüft werden. Diesbezüglich mehr über die Wirkung von N- und Fe-Düngung sowie 2AE-Anwendung als Instrumente in den Versuchsgräsern zu wissen, könnte ihren Wert für spätere Phytoremediations- und Sanierungsmaßnahmen gemäß Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV, 2004) als Dekontaminations- und Immobilisierungsmaßnahmen auch für Cd noch steigern. Die Bestimmung der Cd-Gehalte erfolgte, wie in der Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung empfohlen (BBodSchV, 2004), über Königswasserextraktion und ICP-OES (aber geeicht an der AAS).

Die Wirkung stressbeeinflussender Maßnahmen auf die Cd-Aufnahme wurde besonders im Modellversuch (*Gefäßversuch B*) deutlich. Dort erhöhte die Düngung von N und Fe-Chelat die Gesamt-Cd-Aufnahme (Entzug) in beiden Grasarten gegenüber den Kontrollen (Tabelle 3.29). Bei der N-Düngung beruhte diese Steigerung auf der Biomassezunahme (gemäß Tabelle 3.14), die Cd-Konzentrationen in den Geweben blieben unter N-Düngung ähnlich (Tabelle 3.30). Einzig der Fe-Chelatkomplex veränderte (erhöhte) von den untersuchten Maßnahmen die Cd-Konzentrationen in den Pflanzen (siehe Tabelle 3.30 Gefäßversuch B), über die in diesem Zusammenhang noch zu diskutierenden Bioverfügbarkeiten von Cd sowie Zn siehe Diskussion.

Tabelle 3.29: Cd-Entzug von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* bei Einsatz stressbeeinflussender Maßnahmen (N, P, Fe-Chelat und 2-Aminoethanol) im *Gefäßversuch B* (Modellversuch)

Maßnahme	Cd-Entzug [mg m ⁻²]			
	<i>Arrhenatherum elatius</i>		<i>Elymus repens</i>	
	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
Kontrolle	-	0,677	0,035	1,224
N	0,112	1,346*	-	2,316*
P	0,052	0,987 ⁺	0,007	1,260
Fe	0,116	1,358*	0,045 ⁺	2,064*
2AE	0,074	1,072 ⁺	-	1,124

Düngung/Applikation pro m² Fläche (Gefäßfläche entsprach 1 dm²): 7,0 g N als NH₄NO₃ gedüngt, 4,9 g P als K₂HPO₄ gedüngt, 0,084 g Fe als Fe-Chelat (Fe(III)-EDTA) gedüngt, 0,4 g 2-Aminoethanol als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben. Für die Berechnung der Daten wurde Anlage 15 und Anlage 17 verwendet.

* ... signifikanter Mittelwertunterschied zur Kontrolle P<0,05 nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test)

⁺ ... Mittelwertunterschied zur Kontrolle P<0,1 (Trend) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test)

Die P-Zusatzdüngung und die 2AE-Applikation beeinflussten die Cd-Aufnahme (Entzug) bei *Elymus repens* nicht und bei *Arrhenatherum elatius* in der Tendenz positiv. Und unabhängig von der Düngung und Pflanzenbehandlung wurde im Modellversuch in den Wurzeln von *Elymus repens* mehr Cd eingelagert als in den Wurzeln von *Arrhenatherum elatius*.

Tabelle 3.30: Veränderung der Cd-Konzentration in Spross und Wurzel von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* durch den Einsatz stressbeeinflussender Maßnahmen (N, P, Fe-Chelat und 2-Aminoethanol) in *Gefäßversuch B*

Maßnahme	Cd-Konzentration [µg Cd g ⁻¹ Spross- bzw. Wurzel-TM]			
	<i>Arrhenatherum elatius</i>		<i>Elymus repens</i>	
	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
Kontrolle	n.w.	3,34	0,50	9,64
N	0,32	4,24	n.w.	9,28
P	0,59	5,14	0,14	10,18
Fe	1,04	6,22 ⁺	0,68 ⁺	14,68 [*]
2AE	0,68	4,96	n.w.	8,92

Düngung/Applikation pro m² Fläche (Gefäßfläche entsprach 1 dm²): 7,0 g N als NH₄NO₃ gedüngt, 4,9 g P als K₂HPO₄ gedüngt, 0,084 g Fe als Fe-Chelat (Fe(III)-EDTA) gedüngt, 0,4 g 2-Aminoethanol als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben. Die zugrunde liegenden Mittelwerte ± Standardabweichung sind in Anlage 15 aufgeführt. n.w. nicht nachweisbar

* ... signifikanter Mittelwertunterschied zur Kontrolle P<0,05 nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test)

⁺ ... Mittelwertunterschied zur Kontrolle P<0,1 (Trend) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test)

Im Freiland (*Versuch C*) war der Cd-Entzug nicht ermittelbar (Tabelle 3.31), da in den Sprossen kein Cd nachgewiesen werden konnte. Dieses aus analytischer Sicht ungünstige Ergebnis war aber aus ökologischer Sicht sehr positiv zu bewerten, da kein Cd-Transfer aus den Wurzeln in den Spross stattfand. Dass eine Cd-Aufnahme in die Wurzeln aber auch in *Versuch C* stattfand, zeigt Tabelle 3.31.

Tabelle 3.31: Veränderung der Cd-Konzentration in Spross und Wurzel von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* durch den Einsatz stressbeeinflussender Maßnahmen (N, P, Fe-Chelat und 2-Aminoethanol) in *Versuch C* (Freiland)

Maßnahme	Cd-Konzentration [µg Cd g ⁻¹ Spross- bzw. Wurzel-TM]			
	<i>Arrhenatherum elatius</i>		<i>Elymus repens</i>	
	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
Kontrolle	n.w.	1,74	n.w.	1,29
N	n.w.	1,74	n.w.	1,74
P	n.w.	2,19	n.w.	0,84
Fe	n.w.	1,51	n.w.	1,74
2AE	n.w.	2,64	n.w.	1,29

Düngung/Applikation pro m² Fläche: 7,0 g N als NH₄NO₃ gedüngt, 4,9 g P als K₂HPO₄ gedüngt, 0,084 g Fe als Fe-Chelat (Fe(III)-EDTA) gedüngt, 0,4 g 2-Aminoethanol als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; Die Pflanzenernte erfolgte nach der Bestockung vor dem Sprossschieben. Die zugrunde liegenden Mittelwerte ± Standardabweichung sind in Anlage 19 aufgeführt. n.w. nicht nachweisbar

4. Diskussion

4.1. Der Status standorttypischer Bodenparameter im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ 15 Jahre nach Schließung des früheren Düngemittelwerkes

Am Standort „Steudnitz“ verursachten die jahrzehntelangen Emissionen eines früheren Zement und späteren Phosphatdüngemittelwerkes eine starke Belastung des umliegenden Gebietes. Dies führte zu einer Störung des gesamten Ökosystems einhergehend mit einer stark veränderten Artengemeinschaft sowie einer Veränderung der geo-biogenen Wechselwirkungen (Kapitel 1.1). Mit dem Ende der Emissionen durch die Stilllegung der Produktion (Abbruch der Störung) veränderte sich die geo-pedochemische Belastung am Standort (Metzner *et al.*, 1997; Friedrich, 2002) und die Biodiversität im gesamten Ökosystem nahm wieder zu (Heinrich *et al.*, 2001; Perner *et al.*, 2003).

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit Bio-Geo-Interaktionen auf der Basis des Standortes „Steudnitz“, speziell mit pflanzlichen Stressreaktionen auf die geo-pedochemische Belastung. Außerdem wurden Möglichkeiten zur Beeinflussung dieser pflanzlichen Stressreaktionen untersucht und für Phytoremediations- und Sanierungsmaßnahmen bewertet.

Bevor jedoch die pflanzliche Stressreaktion in geplanten Versuchen untersucht werden konnte, sollte, um eine Ausgangsbasis für die Pflanzenversuche zu haben und die Frage der tatsächlichen Bodenbelastung 15 Jahre nach Einstellung der Emissionen zu klären, zuerst der aktuelle Status standorttypischer Bodenparameter am Standort „Steudnitz“ bestimmt werden. Zu diesem Zweck wurden in den Jahren 2003 und 2004 Bodenuntersuchungen durchgeführt wobei neben dem pH-Wert, Elementgehalten von Al, Ca, Cd, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Zn nach Königswasseraufschluss auch pflanzenverfügbarer Stickstoff (N_{\min}) und Phosphor (*Olsen P*) bestimmt wurden (siehe Kapitel 2.2).

Dabei zeigte sich, dass die Ca- und P-Bodengehalte 2003/2004 im Vergleich zu bekannten, älteren und ebenfalls nach der Werksschließung erhobenen Bodendaten von Metzner *et al.* (1997) noch unverändert sehr hoch waren. Auch die Bodengehalte von Fe, K, Mg, Mn und Zn wichen ebenfalls nicht von denen in Metzner *et al.* (1997) beschriebenen Werten ab. Mengenmäßig betrachtet haben diese letztgenannten Elemente aber ebenso wie die Al-Gehalte für den Boden am Standort weder positive noch negative Bedeutung. Sie lagen innerhalb der von Scheffer & Schachtschabel (2002) aufgeführten Richtwerte für deutsche Böden (Tabelle 3.1).

Der Trend sinkender Na-Gehalte (Friedrich, 2002) hält dagegen am Standort „Steudnitz“ auch in 2003/2004 weiter an, wobei die Geschwindigkeit der Abnahme seit Einstellung der Emissionen erwartungsgemäß rückläufig ist. An stärker belasteten Flächen im Untersuchungsgebiet wie am Unterhang stellen sie sicher noch einen Belastungsfaktor dar. Das Element Cd wird aufgrund seiner Bedeutung für den Bodenschutz (BBodSchV, 2004) speziell wegen seiner toxischen Eigenschaften gesondert in Kapitel 4.7. besprochen.

Mit besonderer Spannung wurden die Ergebnisse der in der vorliegenden Arbeit erstmals an vielen Messstellen überprüften pflanzenverfügbaren Gehalte von P und N erwartet. Während der verfügbare P ebenso wie schon der Gesamt-P-Gehalt des Bodens im Vergleich mit Daten von Delgado & Torrent (1997) auf vergleichbaren Böden deutlich erhöht war (Abbildung 3.3), wurde beim mineralisierten N

ein erhebliches Defizit (!) im Boden des Standortes „Steudnitz“ aufgedeckt (Abbildung 3.4). Da anzunehmen war, dass diese vor allem für mineralisierten N neuen Erkenntnisse für die Entwicklung des Ökosystems am Standort „Steudnitz“ von großer Bedeutung waren und/oder sind, wurden in der vorliegenden Arbeit ferner Pflanzenversuche durchgeführt und auch diskutiert (siehe dazu Kapitel 4.2 bzw. 4.3), die die geo-pedochemische Wirkung von P und N auf die pflanzliche Stressreaktion untersuchen.

Der nun anschließend zu diskutierende Boden-pH-Wert stellt schon seit den frühen Veröffentlichungen zum Standort „Steudnitz“ von Heinrich (1984) eine wichtige Größe für die emissionsbedingten Veränderungen des Ökosystems dar, und wurde auch nach dem Abbruch der Düngemittelherstellung in späteren Arbeiten (Friedrich, 2002; Perner *et al.*, 2003) weiter untersucht. Den aktuellen Stand repräsentieren die in dieser Arbeit für die Jahre 2003/2004 gemessenen pH-Werte (Abbildung 3.2).

Wies Heinrich (1984) in unmittelbarer Nähe des Emittenten am Unterhang des Untersuchungsgebietes noch Boden-pH-Werte größer 9 und weiter entfernt am Mittel- sowie Oberhang von 7,6 aus, so stellten Perner *et al.* (2003) schon kurz nach Einstellung der Emissionen mit Schließung des Düngemittelwerkes einen Rückgang fest der sich bis zu den vorliegenden Messungen der Jahre 2003/2004 noch weiter fortsetzte. Verglichen mit für Thüringer Muschelkalkverwitterungsböden nach Zorn & Krause (1999) üblichen pH-Werten um neutral (pH 7,0), haben sich die Werte bis 2003/2004 am Unterhang weitgehend (pH 7,6) sowie am Mittel- und Oberhang vollständig (pH 7,0) normalisiert.

Da in der Vergangenheit keine konkreten Aussagen zur Ursache der stark alkalischen Boden-pH-Werte am Standort „Steudnitz“ gemacht wurden, kann eine zu diesem späteren Zeitpunkt aufgestellte Hypothese nur an den geo-pedochemischen Veränderungen nach Einstellung der Emissionen festgemacht werden. Danach riefen vermutlich die durch die Düngemittelherstellung (Friedrich, 2002) freiwerdenden großen Mengen an Na die hohen von Heinrich (1984) beschriebenen Boden-pH-Werte hervor, denn im Gegensatz zu ortsüblichen Ca-Verbindungen erreichen Na-Verbindungen pH-Werte größer 10 (BASF, 2005). Nach Ausbleiben der Emissionen mit Werksschließung sank der Na-Gehalt des Bodens wieder (Metzner *et al.*, 1997; Perner *et al.*, 2003) aufgrund der hohen Mobilität von Na im Boden (McLaren *et al.*, 2003), und mit dem Na-Austrag ging dann parallel der Boden-pH-Wert zurück. Ein weiteres Indiz für diese Theorie ist die in der vorliegenden Arbeit für die Untersuchungen in 2003/2004 festzustellende Verschiebung der Abhängigkeit (Korrelation) des pH-Wertes von Na weg, hin zur neuen pH-Wert-bestimmenden Größe Ca (Anlage 5 im Anhang) im Gegensatz zu älteren Korrelationen von Metzner *et al.* (1997).

Die für 2003/2004 gezeigte Diskrepanz der Boden-pH-Werte zwischen werksnahe Unterhang und werksferneren Mittel- sowie Oberhang kann ebenfalls mit den Na-Bodengehalten erklärt werden, denn diese waren am Unterhang deutlich höher als an den übrigen untersuchten Flächen (Tabelle 3.1). Für die zukünftige Entwicklung des Standortes ist anzunehmen, dass sich der pH-Wert am Unterhang, wenn auch mit abnehmender Geschwindigkeit, wie am Mittel- und Oberhang schon geschehen, weiter dem von Zorn & Krause (1999) als ortsüblich ausgewiesenen pH-Wert um neutral (pH 7,0) angleichen wird. In wie weit dies die Mobilität, d.h. Pflanzenverfügbarkeit und Austrag, von P bzw. Cd im Boden verändert, wird in den Kapiteln 4.2.3 bzw. 4.7 besprochen.

Nachdem nun zuvor der Elementstatus im Boden des Standortes „Steudnitz“ hinreichend für die Jahre 2003/2004 aufgeklärt wurde, stellt sich jetzt weiter die wichtige Frage nach der allgemeinen Belastungssituation des Untersuchungsgebietes 15 Jahre nach Einstellung der Emissionen. Um diese Frage beantworten zu können, sollten anders als z.B. in den Arbeiten von Metzner *et al.* (1997), Heinrich *et al.* (2001) und Wagner (2007) alle Messpunkte am Standort „Steudnitz“ anhand ihrer relevanten geo-pedochemischen Parameter gewichtet und strukturiert werden. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb eine hierarchische Clusteranalyse mit vorgeschalteter Faktorenanalyse durchgeführt. Die Clusteranalyse ist ein modernes multivariates statistisches Verfahren (Bühl & Zöfel, 2002), bei dem anhand von vorgegebenen Variablen Gruppen von Fällen gebildet werden. Die Mitglieder einer Gruppe weisen dabei ähnliche Variablenausprägungen auf, d.h. sie liegen nah beieinander (für mehr siehe Kapitel 2.5).

Für den Standort „Steudnitz“ ergab sich anhand der Bodenanalysen der vorliegenden Arbeit, eine Einteilung in drei Gruppen (Cluster) unterschiedlicher Belastung (Abbildung 3.1). Die höchste geo-pedochemische Belastung wiesen danach zum Zeitpunkt der Analyse 2003/2004 die Messpunkte vom unteren Hangabschnitt des Untersuchungsgebietes auf. Diese Flächen lagen in unmittelbarer Nähe des ehemaligen Düngemittelwerkes und waren den Elementemissionen am stärksten ausgesetzt. Hier fanden sich auch für den Zeitraum der Probennahme 2003/2004 die höchsten Gehalte von Ca, Na und P sowie des Schwermetalls Cd (Tabelle 3.1). Eine Gruppe mittlerer Belastung bildeten die sich anschließenden Messpunkte vom Mittelhang gefolgt von den am geringsten belasteten Messpunkten am Oberhang. Da in jüngeren Arbeiten zum Standort keine Einigkeit über die Belastung am oberen Hangabschnitt des Untersuchungsgebietes zwischen Heinrich *et al.* (2001) „belastet“ und Friedrich (2002) „unbelastet“ bestand, wurden in der vorliegenden Clusteranalyse auch Daten einer dem Standort „Steudnitz“ vergleichbaren, aber unbelasteten Messstelle, mit einbezogen (siehe Kapitel 2.1). Die Ergebnisse waren eindeutig. Alle Messpunkte vom Standort „Steudnitz“ unterschieden sich von dieser in der Clusteranalyse ebenfalls mitgeführten unbelasteten Referenzstelle (Abbildung 3.1). Der ganze Standort wird in der vorliegenden Arbeit somit, entgegen der Annahme Friedrichs (2002), auch für die Jahre 2003/2004 noch als belastet (gestört) angesehen.

Nachdem mittels Clusteranalyse der Nachweis einer bodenchemischen Belastung des gesamten Standortes „Steudnitz“ erbracht war, wurde im nächsten Schritt eine biologische Komponente des Ökosystems, die Pflanzen, näher betrachtet. Es galt die Frage zu klären, ob die für die Jahre 2003/2004 festgestellte geo-pedochemische Belastung in ihrer Höhe auch ausgewählte standorttypische Pflanzen messbar beeinflussen kann. Die nachfolgend zu diskutierenden Pflanzenversuche untersuchten deshalb die Stressantwort dieser Pflanzen (Bio-Geo-Interaktion) und gingen im Blick möglicher Phytoremediations- und Sanierungsmaßnahmen der Modulation dieser Stressantwort nach.

4.2. Die Wirkungen von P im Boden auf die Stressreaktion von Gräsern und ihre Bedeutung für den Standort „Steudnitz“

Die in den Bodenuntersuchungen dieser Arbeit am Standort „Steudnitz“ für die Jahre 2003/2004 gemessenen Gesamt-P-Gehalte mit Höchstwerten von zum Teil mehr als $100000 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$

haben sich im Vergleich zu Werten aus Metzner *et al.* (1997), die teilweise schon 10 bis 20 Jahre zuvor gemessen wurden, nicht verändert. Aus dieser Persistenz des P im Boden verbunden mit pH-Werten $>7,0$ und der sehr strengen Korrelation mit dem Ca-Gehalt des Bodens kann geschlussfolgert werden, dass der Großteil des Gesamt-P am Standort „Steudnitz“ in Form schwerlöslicher Phosphate in Verbindung mit Ca z.B. als Apatit ($\text{Ca}_5[(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{Cl}, \text{OH}, \frac{1}{2} \text{CO}_3)]$) im Boden gebunden wurde (Delgado & Torrent, 2000). Unter den Wissenschaftlern des Graduiertenkollegs „Funktions- und Regenerationsanalyse belasteter Ökosysteme“ wurde nun die Frage aufgeworfen, ob die am Standort „Steudnitz“ ebenfalls beobachteten Veränderungen der Biodiversität (Schäller *et al.*, 1987; Heinrich *et al.*, 2001; Perner *et al.*, 2003) im Zusammenhang mit den hohen P-Überschüssen im Boden stehen. Die vorliegende Arbeit griff diese Frage auf. In dem ersten Teil der Arbeit, den Bodenanalysen, wurde deshalb auch der pflanzenverfügbare P (erstmalig als *Olsen P*) bestimmt. Die Vorzüge dieser Methode wurden unter Kapitel 1.2 hinreichend beschrieben. Die Bodenanalysen offenbarten pflanzenverfügbare P-Gehalte von bis zu $300 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$. Im Verhältnis zum Gesamt-P (400fach größer) scheinen diese pflanzenverfügbaren P-Gehalte vielleicht gering, aber verglichen mit ca. $30 \text{ mg pflanzenverfügbarer P kg}^{-1} \text{ BoTM}$ gut P-versorgter CaCO_3 -reicher Böden (Delgado & Torrent, 1997) sind die gemessenen verfügbaren P-Gehalte noch 10 fach (!) erhöht.

Da nun die Basis (pflanzenverfügbarer P-Gehalt) ermittelt war, stellte sich jetzt die nächste Frage nach der Wirkung von P-Gehalten dieser Höhe im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ auf standorttypische Pflanzen. Da die Literatur hierzu nur unzureichende Angaben liefern konnte, sollte ein Modellversuch die nötigen Erkenntnisse bei hohen pflanzenverfügbaren P-Gehalten im Boden erbringen. Es folgte *Gefäßversuch A* (siehe Kapitel 2.3.1 und Kapitel 3.2). Als standorttypische Pflanzen wurden die Gräser *Arrhenatherum elatius* (= Glatthafer) und *Elymus repens* (= Quecke) sowie die in Neubauerversuchen gut untersuchte Referenzpflanze *Avena sativa* (= Hafer) eingesetzt. Von einem in der Pflanzenernährung für Gefäßversuche üblichen verfügbaren P-Gehalt von $140 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$ ausgehend wurde die Reaktion der Versuchsgräser in Sandsubstrat auf zusätzliche P-Gaben und ebenso auf P-Defizit untersucht.

4.2.1. P-Mangel

Die Untersuchungen zum Stressverhalten von Gräsern nicht nur auf P-Überschuss im Boden zu begrenzen, sondern auch auf P-Mangel auszuweiten, war ein notwendiger Zwischenschritt, da viele der in *Gefäßversuch A* (Modellversuch) angewandten Stressindikationsmethoden im Zusammenhang mit Boden-P-Gehalten bisher noch gar nicht untersucht wurden und P-Überschuss im Boden dazu in der Literatur (Kapitel 4.2.2) bisher kaum Beachtung fand. Darüber hinaus ist für eine Übertragung der Ergebnisse des Modellversuches auf reale Ökosysteme, wie den Standort „Steudnitz“, ein breites Spektrum an Boden-P-Gehalten immer von Vorteil. Aufgrund einer besseren Nachvollziehbarkeit des Lesers (Dosis-Wirkungsprinzip) wurden die Ergebnisse der morphologischen, physiologischen und biochemischen Untersuchungen bei P-Mangel denen des P-Überschuss vorangestellt.

Ein erstes wichtiges Ergebnis in *Gefäßversuch A* war der Nachweis, dass bei P-Mangelernährung die P-Konzentrationen in allen drei Versuchsgräsern parallel zum Boden-P absanken (positive Korrelation). Die Versuchsgräser reagierten in *Gefäßversuch A* darauf mit steigenden P-Aufnahme-

raten (P-Ausnutzung) z.B. 100 % bei der geringsten P-Menge von 25 mg P kg⁻¹ BoTM. Solch eine Steigerung der P-Aufnahme durch die Wurzeln wird nach Claassen (2007) über den Spross gesteuert. Schmidt & Schikora (2001) vermuten weiter, dass die von den Wurzeln benötigte höhere Anzahl an P-Transferzellen und Wurzelhaaren über das Ansprechen spezieller Gene („GCC-Box“) durch Signalkaskaden der beiden Pflanzenhormone Ethylen bzw. alternativ Auxin gebildet werden.

Eine weitere Reaktion, der Gräser auf sinkende Boden-P-Gehalte in *Gefäßversuch A* war eine verstärkte Säureabgabe über die Wurzeln in die Rhizosphäre, infolgedessen der Boden-pH-Wert abnahm. Durch das aktive Ausscheiden von Protonen (H⁺) über Protonenpumpen (H⁺-ATPase) in der Wurzelmembran (Merbach, 2007) bzw. die Steigerung der Wurzelmembranpermeabilität für organische Säuren (Egle, 2002; Römer, 2006) erhöht sich die P-Löslichkeit (P-Bioverfügbarkeit) im Boden. Den Pflanzen steht mehr P für die Aufnahme zur Verfügung (Claassen, 2007).

Weiter war zu beobachten, dass der Boden-pH-Wert nicht endlos mit dem abnehmenden Boden-P-Gehalt abfiel, sondern ab einem Gehalt von 50 mg P kg⁻¹ BoTM bei pH 4,0 stagnierte (Abbildung 3.15). Die Ursache dieser Stagnation könnte der Rückgang des Protonenausstoßes der Wurzel sein, denn der Protonenausstoß der Wurzel in die Rhizosphäre ist wiederum direkt von der NH₄⁺-Aufnahme abhängig (Grinsted *et al.*, 1982; Schubert, 1990; Claassen, 2007). Und NH₄⁺ war konstant bzw. limitiert in allen P-Abstufungen des *Gefäßversuches A* durch die immer gleiche N-Düngung (200 mg N kg⁻¹ BoTM als NH₄NO₃). Letztlich beeinflusst somit die N-Versorgung auch die P-Akquisition der Pflanzen bei P-Mangelernährung (Claassen, 2007).

Die Untersuchung weiterer Mineralelemente in *Gefäßversuch A* wies bei P-Mangel ferner eine Abnahme der Ca- sowie der Mn-Konzentration aus. Während für die verminderte Ca-Aufnahme noch zusätzlich die starke pH-Absenkung in der Rhizosphäre verantwortlich gemacht werden kann (Scheffer & Schachtschabel, 2002), muss der Rückgang der Mn-Konzentration in den Gräsern allein mit der physiologischen Belastung durch den bei P-Mangel erklärt werden. Diese Verringerung der Mn-Aufnahme bei P-Mangel wiegt umso schwerer, da im Gegensatz dazu bei „ausreichender“ P-Versorgung ein niedriger Boden-pH-Wert die Mn-Aufnahme in die Pflanzen erhöht (Mitchell *et al.*, 2000).

Eine der wesentlichsten Veränderungen, die bei den unter P-Mangel kultivierten Gräsern in *Gefäßversuch A* auftrat, war eine nach Zorn *et al.* (2007) zu erwartende Verschlechterung der morphologischen Entwicklung (Abbildung 3.7). Ein Rückgang der Spross- und Wurzelbiomassen nach dem Dosis-Wirkungsprinzip wurde für jede der drei Spezies unter P-Mangel festgestellt (Kapitel 3.2.2). In der Literatur findet sich dieser Abfall der pflanzlichen Biomasse bei P-Defizit im Boden z.B. auch bei *Triticum aestivum* L. (= Weizen) (Marschner *et al.*, 2005), bei *Oryza sativa* L. (= Reis) (Wissuwa *et al.*, 2005) und bei *Glycine max* (L.) Merr. (= Soja) (Fredeen *et al.*, 1989). Auch die in der Literatur vielfach (Jungk & Claassen, 1986; Jungk & Claassen, 1989; Schmidt & Schikora, 2001; Merbach, 2007) beschriebene Verschiebung des Spross/Wurzel-Verhältnisses hin zur Wurzel, um die potenzielle Oberfläche zur Aufnahme des P zu vergrößern, konnte in *Gefäßversuch A* nachgewiesen werden.

Die Ursachen für den beobachteten Biomasserückgang können, aufgrund der vielseitigen Verwendung von P in der Pflanze, aber ebenso vielfältig sein (siehe Kapitel 1.2). Stellvertretend sei

nur die zentrale Rolle von P im Energiestoffwechsel genannt. Um weiter zu zeigen, welchen Einfluss P-Mangel auf die Energiegewinnung der Pflanze, die Photosynthese, ausübt, wurde in *Gefäßversuch A* ferner die Chlorophyll-Fluoreszenz der Blätter untersucht. Es konnte ein Rückgang dieser Chlorophyll-Fluoreszenz unter P-Mangel gemessen werden. Für die betroffenen Pflanzen bedeutete diese Drosselung der Photosynthese eine geringere CO₂-Fixierung, d.h. im Umkehrschluss sie bildeten weniger Biomasse.

Weitere Untersuchungen an den Versuchsgräsern bei P-Mangel zeigten ebenfalls Veränderungen. So nahm der lösliche Proteingehalt, analysiert nach der vielfach bewährten Methode von Bradford (1976), unter P-Mangel ab. Arbeiten mit anderen Gräsern wie *Zea mays* L. (= Mais) (Usuda & Shimogawara, 1992) oder *Oryza sativa* L. (Wissuwa *et al.*, 2005) bestätigen diesen Proteinrückgang.

Ganz anders reagierte dagegen der Stressindikator „*freies Prolin*“, eine Aminosäure, auf die Abnahme des P-Gehaltes im Boden. Die Konzentration an *freiem* Prolin stieg in *Gefäßversuch A* bei P-Mangel mehr als die Wachstumsabsenkung an (!). Dies ist kein Widerspruch zum vorher gesagten, denn Matysik *et al.* (2002) berichten auch, dass sich der Anteil *freien* (löslichen) Prolins bezogen auf die gesamte lösliche Proteinfraction bei Stresszunahme von 5 % (ohne Stress) auf 80 % erhöhen kann. *Freies* Prolin kann damit nach den Ergebnissen des *Gefäßversuches A* sowohl bei P-Mangel als auch später gezeigt bei P-Überschuss als Stressindikator eingesetzt werden. Diese Erkenntnisse für P-Stress sind neu und bisher nicht publiziert. Eine Bedeutung für Pflanzen unter Trocken- und Salzstress hat *freies* Prolin, weil es als osmoprotektive Substanz (Kavi Kishor *et al.*, 1995; Ali *et al.*, 1999; Bergmann *et al.*, 1999; Bergmann *et al.*, 2002) wirkt. Aber Prolin wirkt auch entgiftend gegen reaktive Sauerstoffspezies (Saradhi *et al.*, 1995; Matysik *et al.*, 2002) und scheint so bei „P-Stress“ ferner die Stresstoleranz betroffener Pflanzen zu steigern.

Neben Prolin besitzen Pflanzen mit den SOD aber noch wirksamerer Enzyme gegen den oxidativen Stress. Die SOD-Aktivität stieg ebenfalls mit Verringerung der P-Konzentration im Boden (Stresszunahme) an. Dieser Vorgang ist nicht ungewöhnlich, da die Zunahme von Umweltbelastungen auch immer mit einer Zunahme an reaktiven Sauerstoffspezies (oxidativer Stress) verbunden ist (Mascher *et al.*, 2005; Swaraj *et al.*, 2007). Alle Wirkungen abnehmender P-Gehalte im Boden auf die Versuchsgräser sind in Abbildung 4.1 zusammengefasst.

4.2.2. P-Überschuss

Über die Auswirkungen von hohen verfügbaren bis „toxischen“ Boden-P-Gehalten auf die Entwicklung oder das Stressverhalten von Landpflanzen oder gar Gräsern ist bisher im Vergleich zu P-Mangel nur wenig bekannt. Die Hauptursache für dieses wissenschaftliche Desinteresse in der Pflanzenernährung ist wohl, dass ein hoher pflanzenverfügbarer P-Gehalt in der überwiegenden Anzahl der Böden einfach nicht vorkommt. Selbst auf landwirtschaftlichen Flächen mit langjähriger Überdüngung steigen die pflanzenverfügbaren P-Gehalte nur sehr langsam an, denn ein Großteil des P ist im Mineralboden anorganisch gebunden (Delgado & Torrent, 2000). Aber auch die Bindung von P in organischer Substanz (z.B. 0,5 % in BoTM) des Bodens und die P-Sorption an Oberflächen der organischen Substanz (Römer, 2006) ist für die P-Dynamik im Boden von Bedeutung. Ferner konkur-

rieren auch Mikroorganismen mit den Pflanzen um den bioverfügbaren P und reduzieren so ebenfalls dessen Verfügbarkeit im Boden (Abbildung 1.4, Kapitel 1.2). Nur ein kleiner Teil des P im Boden wird durch Niederschläge ausgewaschen oder über partikulären Transport in andere Umweltkompartimente z.B. Gewässer verlagert.

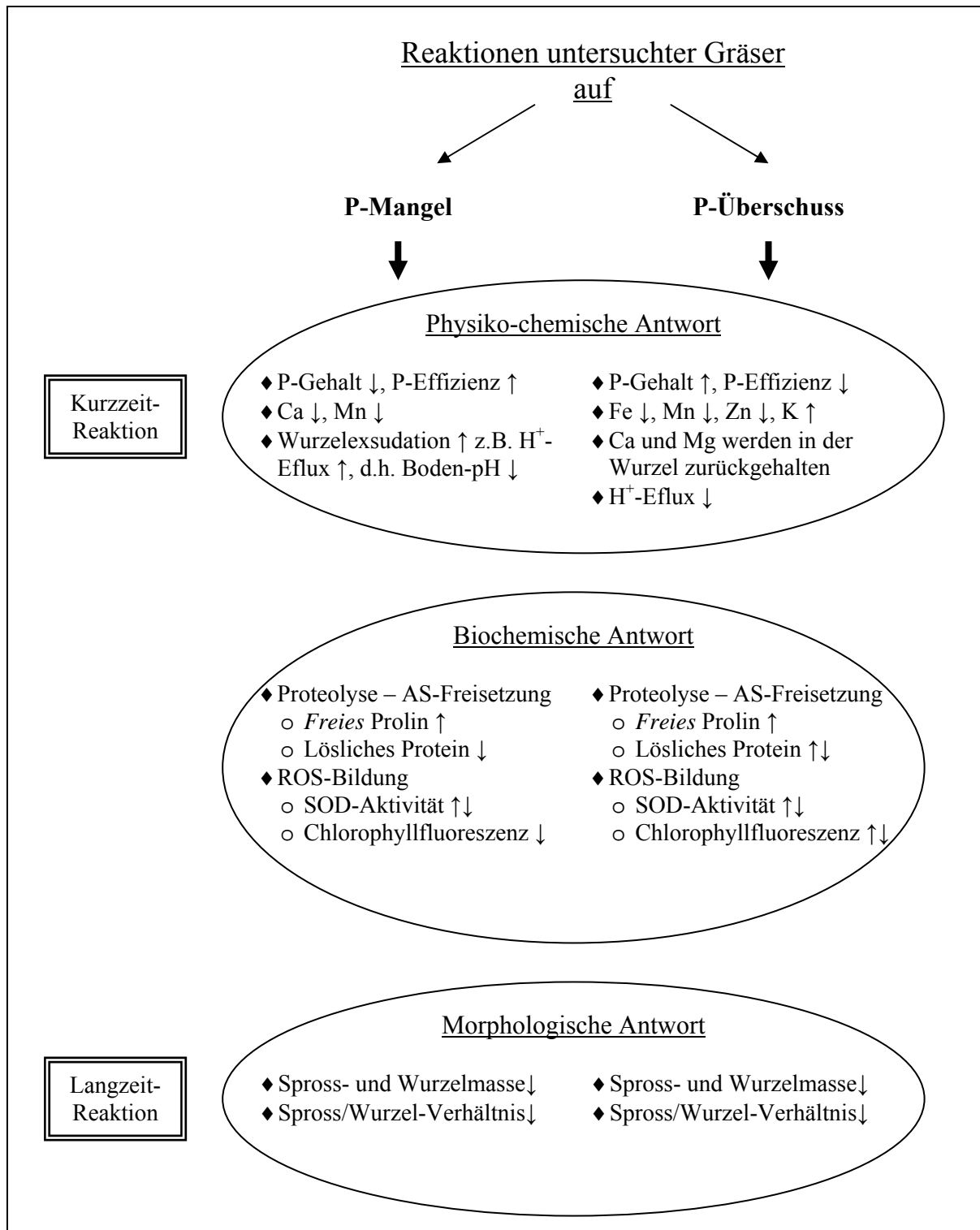


Abbildung 4.1: Übersicht pflanzlicher Stressreaktionen bei P-Mangel und bei P-Überschuss

Zu dem Wenigen, was zum derzeitigen Kenntnisstand zählt, gehört nach Marschner (2003), dass die „toxische“ Wirkung von P ab einem Gehalt von $10000 \mu\text{g P g}^{-1}$ PFTM beginnt. Während für eine optimale Entwicklung von Pflanzen der P-Gehalt selbstverständlich abhängig vom Wachstumsstadium der jeweiligen Spezies zwischen 3000 und $5000 \mu\text{g P g}^{-1}$ PFTM liegen sollte (Marschner, 2003).

Vergleicht man nun diese Erkenntnisse mit den P-Konzentrationen in Pflanzen des *Gefäßversuches A* (Modellversuch) so zeigten alle drei Gräser schon bei optimaler P-Versorgung (140 mg P kg^{-1} BoTM) Gehalte von über $5000 \mu\text{g P g}^{-1}$ PFTM. *Arrhenatherum elatius* erreichte bei der höchsten P-Konzentration ($1000 \text{ mg P kg}^{-1}$ BoTM) im Boden den höchsten P-Anteil im Spross ($16000 \mu\text{g P g}^{-1}$ Spross-TM). Für *Avena sativa* waren diese $1000 \text{ mg P kg}^{-1}$ BoTM „toxisch“ (Wachstumshemmung, ROS-Bildung). *Elymus repens* die schon bei leichten P-Überschüssen (250 mg P kg^{-1} BoTM) viel P aufnahm, hielt dagegen die P-Gehalte aber auch noch bei hohen $1000 \text{ mg P kg}^{-1}$ BoTM um $10000 \mu\text{g P g}^{-1}$ Spross-TM konstant. Von allen drei getesteten Spezies zeigte sich *Elymus repens* im *Gefäßversuch A* in ihrer P-Aufnahme am tolerantesten gegenüber hohen P-Überschüssen im Boden.

Die Analyse weiterer Mineralelemente in den drei Gräsern ergab bei P-Überschüssen eine deutlich verringerte Aufnahme von Mn und Zn in Spross und Wurzel und von Fe in der Wurzel. Ein deutlicher Abfall dieser essentiellen Schwermetalle fand aber erst oberhalb der am Standort „Steudnitz“ pflanzenverfügbaren P-Gehalte ab 500 mg P kg^{-1} BoTM statt. Ebenfalls Hinweise für eine Absenkung von Mn durch hohe P-Gehalte fanden Neilsen *et al.* (1992) in *Triticum aestivum* L. (= Weizen). Ein Rückgang der Zn-Gehalte bei hohem Boden-P-Gehalt konnte in *Gossypium hirsutum* L. (= Baumwolle) von Cakmak & Marschner (1987) nachgewiesen werden. Für Zn wurde diese verringerte Aufnahme in der Literatur mit einer Verringerung der Zn-Löslichkeit im Boden erklärt (Marschner & Schropp, 1977; Loneragan *et al.*, 1979). Wobei auch verstärktes Wachstum des Spross den Zn-Gehalt im Spross verdünnt (Loneragan *et al.*, 1979; Neilsen & Hogue, 1986). Für den Rückgang an Fe oder Mn konnten für P-Überschuss in der Literatur indes keine Erklärungen gefunden werden, aber auch bei diesen beiden Elementen ist vor allem eine Einschränkung ihrer Verfügbarkeit im Boden durch die hohen Boden-P-Gehalte anzunehmen.

Der ebenfalls gemessene Rückgang der Ca-Konzentration in den Versuchsgräsern bei P-Überschuss im Boden beruhte auch im Wesentlichen auf der Bildung schwerlöslicher Ca-Phosphat-Verbindungen im Boden. Des Weiteren konnte in *Gefäßversuch A* aber auch nachgewiesen werden, dass noch ein Großteil des von den Gräsern aufgenommenen in der Rhizosphäre mobilisierten Ca in den Wurzeln verblieb, d.h. es ist anzunehmen, dass Ca nach der Aufnahme erneut in den Wurzelapoplasten in Verbindung mit P festgelegt wurde. Auch für Mg wurde eine Deposition in der Wurzel festgestellt. Für die oben genannten Fe, Mn und Zn gilt es Gleiches zu bedenken.

Der Anstieg der K-Gehalte bei P-Exzess ist eine wichtige Erkenntnis aus dem *Gefäßversuch A*. Er war in der Literatur bisher nicht beschrieben. Es ist aber bekannt, dass K bei osmotischem Stress als kompatibles Osmotikum im Zytoplasma der Pflanzenzelle angereichert wird (Serrano *et al.*, 1999) und das K eine Schutzfunktion gegenüber oxidativem Stress in Pflanzen erfüllt (Cakmak, 2005).

Wichtige Hinweise auf Stress geben Pflanzen schon während ihrer morphologischen Entwicklung (Zorn *et al.*, 2007). So traten bei P-Überschuss im Boden auch „Starrtrachthabitus“ und „Welke-

erscheinungen“ (Zorn *et al.*, 2007) an den Blättern auf (Abbildung 3.7). Die Biomassebildung der Versuchsgräser in *Gefäßversuch A* folgte mit steigendem P-Gehalt im Boden erwartungsgemäß dem Dosis-Wirkungsprinzip. Basierend auf der sich ändernden Nährstoffaufnahme und den anschließend noch zu besprechenden physiologischen Veränderungen in den Versuchsgräsern war die Biomasse ausgehend vom P-Optimum ($140 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$) bei moderatem P-Überschuss ($250 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$) noch annähernd gleich hoch und fiel dann über $500 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$ bis $1000 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$ stark ab (Abbildung 3.8).

Eine der deutlichsten Veränderungen bei P-Überschuss im Boden waren die um ein Vielfaches erhöhten Gehalte von *freiem* Prolin. Ein eindeutiger Beweis, dass P-Exzess im Boden in Pflanzen Stress auslöst (!). Für P ist dies der erste Nachweis. Bisher wurde ein Anstieg dieses Stressindikators häufiger bei Salinität (Soussi *et al.*, 1998; Ali *et al.*, 1999) oder Trockenheit (Bergmann *et al.*, 1999; Sarker *et al.*, 1999; Bergmann *et al.*, 2002) gefunden. Nach diesen deutlichen Ergebnissen des *Gefäßversuches A* kann *freies* Prolin nun auch als ein pflanzlicher Stressindikator für P-Überschuss im Boden genutzt werden. In Pflanzen wirkt *freies* Prolin osmoprotektiv, hält den osmotischen Druck in den Zellen aufrecht und stabilisiert Membranen und Proteine (McNeil *et al.*, 1999; Serrano *et al.*, 1999).

Die in *Gefäßversuch A* bei P-Überschuss ($250 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$) ansteigenden Konzentrationsgehalte an löslichem Protein nach Bradford (1976) decken sich mit Untersuchungen von Soussi *et al.* (1998) an *Cicer arietinum* L. (= Kichererbse) bei Salzstress und stellen nach Lichtenthaler (1996) einen Eu-Stress-Effekt dar. Soussi *et al.* (1998) zeigten aber auch, dass die Konzentration an löslichem Protein durch osmotischen Stress weiter ansteigt, solange sich die Pflanze noch innerhalb ihres Stress-toleranz- bzw. Eustressbereiches (Larcher, 1987) befindet. In *Gefäßversuch A* trifft dies auf *Elymus repens* (Tabelle 3.11) zu. Übersteigt die Stressintensität die maximal tolerierbare Grenze (Resistenz-Maximum), geht die Produktivität (z.B. Wachstum, Biomassebildung) der Pflanze zurück (Lichtenthaler, 1996). Auf die löslichen Proteingehalte bezogen, bedeutet das, sie fallen bei P-Überschuss ab, wie bei *Arrhenatherum elatius* und *Avena sativa* in *Gefäßversuch A* geschehen (Tabelle 3.11).

Auch bei der Chlorophyll-Fluoreszenz-Messung zeigten die drei untersuchten Spezies in *Gefäßversuch A* einmal mehr Unterschiede in ihrer Sensitivität auf die P-Überschüsse im Boden. *Elymus repens* erhöhte bei P-Überschuss noch ihre effektive und maximale Quantenausbeute, was nach Lichtenthaler (1996) dem schon genannten Eu-Stress entspricht. Die Konzentration bei der die Photosynthese messbar gestört wurde war bei *Elymus repens* mit $1000 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$ noch nicht erreicht. Bei *Avena sativa* wirkte schon leichter P-Überschuss $250 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$ im Boden störend, die Leistung des Photosyntheseapparates ging wie auch bei Salinität oder Trockenheit berichtet (Soussi *et al.*, 1998; Ali *et al.*, 1999; Sarker *et al.*, 1999) zurück. Für *Arrhenatherum elatius* lag der Punkt des Leistungsabfalls oberhalb der letztmöglichen Chlorophyll-Fluoreszenz-Messung bei $500 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$. Die physiologischen Wirkungen einer Störung des Photosyntheseapparates in Pflanzen ausgelöst durch hohe P-Gehalte sind in der Literatur bis jetzt nicht beschrieben. Aufgrund der starken Verzahnung von P im Photosynthesesystem von Pflanzen (siehe Kapitel 1.2) sind die physiologischen Auswirkungen sicher vielfältig. Eine wesentliche Rolle bei der Störung der Photosynthese durch

osmotischen Stress kommt nach Dat *et al.* (2000) den reaktiven Sauerstoffspezies (ROS = Reactive Oxygen Species) zu. Und nach Mascher *et al.* (2005) induzieren diese ROS Schäden an den Thylakoidmembranen in den Chloroplasten.

Für die Aktivität der Superoxid-Dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), als Maß für den oxidativen Stress, konnte in *Gefäßversuch A* bei mittlerem P-Überschuss ($250 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$) ein Anstieg gemessen werden. Auf die pflanzenverfügbaren P-Gehalte am Standort „Steudnitz“ bezogen, waren die Versuchsgräser somit gut vor oxidativer Belastung durch ROS geschützt. Nahm der P-Überschuss aber noch weiter zu, wurde die Enzymsynthese, analog zur Abnahme des angesprochenen Abfalls der Konzentration an löslichem Protein, gestört und es setzte ein Abfall der SOD-Aktivität ein. Eine Ursache für die Störung könnte dabei nach Cakmak & Marschner (1987) auch die Verschlechterung der Zn-Versorgung bei P-Überschuss sein, insbesondere bei der Cu/Zn-SOD-Aktivität.

Alle Wirkungen hoher verfügbarer P-Gehalte im Boden auf die Versuchsgräser sind in Abbildung 4.1 zusammengefasst.

4.2.3. Bedeutung der im Modellversuch gewonnenen Erkenntnisse für den Standort „Steudnitz“

Nachdem im Modellversuch (*Gefäßversuch A*) viele neue Erkenntnisse insbesondere über P-Überschuss im Boden auf Gräser gewonnen wurden, sollte im nächsten logischen Schritt eine Übertragung dieser Erkenntnisse auf das Ökosystem „Steudnitz“ erfolgen. Bei einem Abgleich der pflanzenverfügbaren P-Gehalte zwischen Modellversuch und Standort konnte festgestellt werden, dass deutliche Auswirkungen eines P-Stress für die untersuchten Gräser erst bei ca. $500 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$ auftraten. Bei standortrelevanten pflanzenverfügbaren $250 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$ konnte im Modellversuch (*Gefäßversuch A*) kein erhöhter Stress im Vergleich zur optimal mit P versorgten Variante gemessen werden (!).

Nach dieser Feststellung könnte leicht die Hypothese aufgestellt werden, dass der P-Status im Boden auf die Pflanzen am Standort „Steudnitz“ keine Auswirkungen mehr hat oder vielleicht auch nie hatte. Um diese Hypothese zu widerlegen, wurde eine zusätzliche P-Gabe von $140 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ BoTM}$ ($4,9 \text{ g P m}^{-2}$) an den drei geprüften Gräserarten im Parzellenversuch am Standort (*Versuch C*) und parallel dazu in einem weiteren Gefäßversuch mit Boden vom Standort (*Gefäßversuch B*) untersucht.

In beiden Versuchen lies sich im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollvarianten sehr schnell eine Stresszunahme nach P-Gabe an den schlechter entwickelten Pflanzen erkennen. Die Spross- und Wurzelmassen, aber auch physiologische Merkmale, wie die Lichtausbeute der Photosynthese (Chlorophyll-Fluoreszenz), waren in allen Versuchsgräsern geringer. Ferner wirkte sich die zusätzliche P-Gabe, wie im Modellversuch bereits erkannt (siehe zuvor Kapitel 4.2.2), senkend auf die Mn- und die Zn-Aufnahme der drei Gräser aus. Dabei war festzustellen, dass insbesondere *Arrhenatherum elatius* und *Avena sativa* von den Absenkungen stärker betroffen waren als *Elymus repens* (siehe dazu auch Kapitel 4.6).

Auch der Stressindikator *freies* Prolin und die SOD-Aktivität als Maß der oxidativen Belastung waren in den Versuchsgräsern am Standort erhöht und unterstrichen die Stresszunahme durch die zusätzliche P-Gabe. Dass die Zunahme dieser beiden N-haltigen Parameter letztlich aber nur im Parzellenversuch (*Versuch C*) deutlich messbar war, lag daran, dass im Freiland der natürliche Boden-N nicht so stark limitiert war wie im *Gefäßversuch B*.

Aus all den vorliegenden Ergebnissen folgt nun, dass P sehr wohl an den Veränderungen der Vegetationsmuster am Standort „Steudnitz“ zu Zeiten der Elementemissionen beteiligt war. Zurzeit aber liegt der verfügbare P-Gehalt im Boden nach im oberen Toleranzbereich der untersuchten Gräser und stellt somit kein akutes Problem für den Standort mehr dar. Ein Anstieg der P-Verfügbarkeit im Boden ist bei Boden-pH-Werten $\geq 7,0$ auf absehbare Zeit ohne menschliches Eingreifen nicht denkbar. Eine der wichtigsten Erkenntnisse der durchgeführten Untersuchungen ist damit, dass P für die wesentlichen Veränderungen der letzten Jahre nicht allein verantwortlich sein kann. Es muss auch noch andere vielleicht bedeutendere Faktoren am Standort „Steudnitz“ geben.

4.3. Der N-Status im Boden und sein Einfluss auf die Stressreaktion von Gräsern

Einer der Faktoren, die die Biodiversität und Regeneration der Umgebung des ehemaligen Düngemittelwerkes in „Steudnitz“ gerade in den letzten Jahren noch stärker prägten als P, war das Defizit an mineralisiertem Stickstoff (N_{\min}) im Boden. Trotz der vielen zum Teil auch mehrjährigen Bodenuntersuchungen (Heinrich, 1984; Metzner *et al.*, 1997) blieb die N-Problematik des Standortes lange unerkannt. Erst mit Beginn der Arbeit des Graduiertenkollegs „Funktions- und Regenerationsanalyse belasteter Ökosysteme“ wuchs das Interesse am N. Ein erster Schritt war die Bestimmung des Gesamt-N mit Werten zwischen 1000 bis 2000 mg N kg⁻¹ BoTM (Metzner *et al.*, 1997). Diese Werte liegen nach Scheffer & Schachtschabel (2002) im Durchschnitt deutscher Böden und gaben keinen Anlass zu weiterer Berücksichtigung. Es war Friedrich (2002) eine Mitarbeiterin unserer Arbeitsgruppe, die in ihren Untersuchungen zu N-haltigen Stressmetaboliten am Standort „Steudnitz“ erkannte, dass eine Diskrepanz zwischen erwarteter und tatsächlicher Menge dieser Metabolite auftrat. Sie vermutete deshalb, dass die vom Standort entnommenen Pflanzen nicht ausreichend mit N versorgt waren und begründete das Resultat mit den zu niedrigen Proteinkonzentrationen im Pflanzenmaterial.

Da auch in der vorliegenden Arbeit N-abhängige Parameter wie *freies* Prolin, lösliches Protein und SOD-Aktivität bzw. -Muster untersucht wurden, sollten N_{\min} -Bestimmungen im Bodensubstrat entlang des beprobten Transektes den pflanzenchemischen Untersuchungen vorangestellt werden. Es stellte sich heraus, dass der Boden im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ mit Werten von 0,6 bis 2,1 mg N_{\min} kg⁻¹ BoTM im Vergleich mit Normalwerten aus der Literatur von 20 mg N_{\min} kg⁻¹ BoTM (Chambers, 1997; Scheffer & Schachtschabel, 2002) tatsächlich nur sehr geringe N_{\min} -Gehalte enthält. Besonders gering waren dabei die N_{\min} -Gehalte am unteren Hangabschnitt, der mit seiner starken Hangneigung (Abbildung 2.1) und wegen des höheren Bodenskelett- und Sandfraktionsanteils (Anlage 1 im Anhang) gegenüber dem mittleren und oberen Hangabschnitt am Belastungsstandort „Steudnitz“ eine verstärkte N-Auswaschung aufwies. Außerdem kommt es in vereinzelten Jahren am Mittel- und Oberhang infolge eines massenhaften Auftretens von *Vicia hirsuta* (L.) S. F. Gray (Heinrich *et al.*, 2001) zu zusätzlicher biologischer N-Fixierung. Da aber auch diese Leguminose die N_{\min} -Situation

bisher nicht nachhaltig verbessern konnte, verweist dies noch einmal mehr auf die starke Konkurrenz um bioverfügbaren N zwischen Bodenmikroorganismen und der Pflanzengesellschaft. Somit konkurrieren also nicht nur die Pflanzen untereinander, sondern auch die Bodenmikroben mit einem sehr hohen N-Aneignungsvermögen entziehen dem Boden rasch den mineralisierten bioverfügbaren N (Johnson *et al.*, 1997; Corkidi *et al.*, 2002).

Um die Bio-Geo-Interaktionen zwischen dem aktuellen Boden-N_{min}-Status und den Versuchsgräsern, d.h. in dieser Arbeit vor allem das N-Defizit in Pflanzen gestörter Standorte besser zu verstehen, wurde in den Pflanzenversuchen *B* und *C* auch eine Versuchsvariante mit N-Düngung (200 mg N kg⁻¹ BoTM bzw. 7 g N m⁻² als NH₄NO₃) mit einbezogen. Die hier bedarfsgerecht mit N-gedüngten Versuchsgräser unterschieden sich enorm im Wachstum und weiteren morphologischen Parametern von den unbehandelten Kontrollen (Abbildung 3.16) und lieferten so einen Beweis für die geringe Pflanzenverfügbarkeit des N im Boden des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“. Neben der enormen Biomassezunahme (Vervierfachung), nahm auch die oberirdische Sprossmasse im Verhältnis zur Wurzelmasse zu (Abbildung 3.16 bzw. Abbildung 3.20). Die Gesamtaufnahme (Gesamtentzug) der Elemente aus dem Boden stieg ebenfalls an, folgte aber im Wesentlichen dem Wachstum.

Anmerkung: Auch schädliche Schwermetalle wie Cd wurden dem Boden vermehrt entzogen (!). Von besonderer Bedeutung wird dieses Ergebnis sicherlich für zukünftige Phytoremediationsmaßnahmen sein.

Wenn über die Bestimmung von morphologischen Parametern (Sprosswachstum, Wurzelwachstum, Spross/Wurzel-Massenverhältnis) ein erster fundamentaler Nachweis für einen Mangel an pflanzenverfügbaren N (als wesentlicher Stressor des beprobten Standortes) erbracht wurde, ist im Anschluss daran danach gefragt worden, ob die morphologische Stressresponse auch auf der physiologischen und biochemischen Stressindikationsebene nachvollziehbar ist. Zur pflanzen-biochemischen Stressindikation wird von Pflanzenphysiologen vorzugsweise der Prolintest herangezogen, da die Konzentration an *freiem* Prolin positiv mit der Stressintensität korreliert (Bergmann *et al.*, 2002; Matysik *et al.*, 2002).

Die gesteigerte Biosynthese von *freiem* Prolin unter Stress setzt jedoch eine uneingeschränkte N-Bereitstellung voraus. Das hier ermittelte N_{min}-Defizit ließ folglich Abweichungen vom aufgezeigten Zusammenhang zwischen Stress und der Konzentration an *freiem* Prolin erwarten (vgl. Friedrich (2002)). Diese Abweichungen wurden in den Pflanzenversuchen *B* und *C* erwartungsgemäß auch wieder gefunden, indem durch Ausschaltung des N_{min}-Defizits infolge zusätzlicher Mineral-N-Düngung eine Akkumulation an *freiem* Prolin nachweisbar war (Tabelle 3.18 bzw. Tabelle 3.27).

Methodenkonsequenz: Wenn *freies* Prolin als Stressindikator verwendet werden soll, ist bei Verdacht auf eine Mangelversorgung an pflanzenverfügbarem N (siehe Pflanzendiagnose Zorn *et al.* (2007)) ein N_{min}-Bodentest z.B. als Schnelltest der aufwendigen Prolinanalytik voranzustellen. Gleiches gilt auch für Glycinbetain oder Trigonellin, die ebenfalls als Stressindikatoren herangezogen werden können (vgl. Bergmann *et al.* (2002)). - Es sei denn, dass ein N-limitierter Pflanzenstoffwechsel die Proteinbildung stärker einschränkt als die Synthese von *freiem* Prolin. - Dieser Hypothese wurde in der vorliegenden Arbeit nachgegangen. Ausgehend von dieser Annahme, sollte jetzt das Verhältnis *freies* Prolin zu löslichem Protein die Stressminderung im Vergleich zu den

Kontrollen zeigen. Dieser indirekte Nachweis gelang. Die bedarfsgerecht mit N gedüngten Gräser bildeten im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen weniger *freies* Prolin im Verhältnis zum löslichen Protein. Somit ist über Bestimmung des *freien* Prolin/Protein-Verhältnisses eine biochemische Stressindikation auch bei suboptimalem N-Angebot akzeptabel, wenn man auf N-Metabolite zur Stressindikation nicht verzichten will. Diese Methodische Konsequenz lässt sich auch auf die Verwendung der Stressindikatoren Glycinbetain, Trigonellin oder andere Betaine übertragen.

Um die Stressindikation auf der metabolischen Ebene (Metabolismus) abzusichern, sollten verschiedene Indikationsmethoden gleichzeitig eingesetzt werden. In der vorliegenden Arbeit ist die Stressindikationsgröße „oxidativer Stress“ noch in die Stressuntersuchungen mit einbezogen worden. Diese Größe ist unabhängig gegenüber dem N-Stressmetabolismus zu betrachten. Und damit ließ sich die hier praktizierte Stressindikation über den Prolin/Protein-Quotienten überprüfen. – So führte eine Kompensation des N_{\min} -Defizits durch zusätzliche Mineral-N-Düngung zu einer Abnahme des oxidativen Stresspotenzials (siehe Ergebnisse Abbildung 3.17). Nachweisbar war diese Stressverminderung über die abnehmenden Enzymaktivitäten der Superoxid-Dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) eines der so genannten „antioxidativen Enzyme“ zu denen auch Peroxidase (POD, EC 1.11.1.7) und Katalase (CAT, EC 1.11.1.6) gehören (Palatnik *et al.*, 2002; Mascher *et al.*, 2005).

Ergänzt wurde das Stressindikationsprogramm in der vorliegenden Arbeit noch durch die Einschaltung eines biophysikalischen Stresstestes in Gestalt der Chlorophyll-Fluoreszenz-Messung (Strasser *et al.*, 1999; Strasser *et al.*, 2000). Im Falle der Ausschaltung des geochemischen Stressors N_{\min} -Mangel nahm die photosynthetisch wirksame Quantenausbeute zu.

Um den geochemischen Stressor N_{\min} -Mangel als biologisch wirksamen Stressfaktor sicher zu indizieren, ist der Einsatz mehrerer Methoden zu empfehlen. Morphologische Messungen liefern Daten über integrierte Stresseffekte an einem Tag aber auch über mehrere Wochen. Biochemische/metabolische oder biophysikalische Messungen liefern Momentaufnahmen zum Belastungszustand in Pflanzen oder in ganzen biologischen Systemen. Über zeitlich gestaffelte Messreihen lässt sich mittels biochemischer und biophysikalischer Methoden aber das komplexe („Black Box“) morphologische Messresultat für ökologische ökophysiologische Fragestellungen aufklären. Für molekularbiologische Forschungsansätze sind die hier gewollte Raum-Zeit-Skala und der empfohlene Methodenansatz natürlich ohne Relevanz.

4.4. Beeinflussung der Stressreaktion in Gräsern durch eine Bodenbehandlung mit Calciumcarbonat oder Fe-Chelat oder durch eine Pflanzenbehandlung mit 2-Aminoethanol

Mit diesen gezielten Eingriffen sollten die Ursachen der pflanzenphysiologischen Belastung infolge eines P-Überschusses auch in der Wechselwirkung mit weiteren unter Kapitel 4.1 genannten Stressoren z.B. mineralisiertem N erkannt werden, und es sollten Lösungsansätze für Remediationsverfahren aufgedeckt werden.

4.4.1. Bodenbehandlung mit Calciumcarbonat (CaCO_3)

Die chemische Verbindung CaCO_3 wurde aus mehreren Gründen zur Testung ihrer Wirkung auf die Reaktion gestresster Gräser ausgewählt. Die Kationenkomponente Ca^{2+} wirkt bei osmotischem Stress in Gräsern wachstumsfördernd (Ehret *et al.*, 1990; Kinraide, 1999) und stressreduzierend (Sadiqov *et al.*, 2002). Neben dieser direkten Stärkung der Pflanzen ist CaCO_3 aber auch für die Festlegung von P-Überschüssen im Boden eine Voraussetzung. Ca^{2+} und Phosphat-Ionen verbinden sich in Böden mit neutraler und schwach alkalischer Reaktion zu schwerlöslichen Phosphaten wie Apatit ($\text{Ca}_5[(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{Cl}, \text{OH}, \frac{1}{2} \text{CO}_3)]$) (Delgado & Torrent, 2000), während HCO_3^- -Ionen als Carbonatpuffer den pH-Wert um 7,0 stabil halten (Zorn & Krause, 1999). Eine erneute Freisetzung des P aus z.B. Apatit und damit ein Überschuss an verfügbarem P im Boden könnte so verhindert werden.

Obgleich die Wechselwirkungen zwischen P und Ca im neutralen oder schwach alkalischen pH-Bereich gut untersucht sind (Zorn & Krause, 1999; Delgado & Torrent, 2000), wurde trotzdem ein Modellexperiment (*Gefäßversuch A*) durchgeführt, dass neben der beschriebenen Staffelung des pflanzenverfügbaren P-Angebotes von P-Mangel bis P-Überschuss in einer Variante ohne CaCO_3 aber in einer zweiten Variante mit CaCO_3 gefahren wurde. Mit dieser experimentellen Vorgehensweise konnte die Interaktion von CaCO_3 mit P (als K_2HPO_4 gedüngt) genau ermittelt werden. (Bei den Bodensubstraten in den Versuchsreihen *B* und *C* war das nicht möglich.)

So verhinderte der CaCO_3 -Zusatz in *Gefäßversuch A* bei P-Exzess die überhöhten nach Marschner (2003) teils toxischen Konzentrationsanstiege von P in den Versuchsgräsern, d.h. CaCO_3 reduzierte die Pflanzenverfügbarkeit von P im Boden. Eine Eigenschaft die auch in der Literatur belegt ist (Robbins *et al.*, 1999; Samadi & Gilkes, 1999). Auf das Wachstum der Versuchsgräser bei P-Überschuss wirkte CaCO_3 aber hemmend, und Stressmetabolite wie freies Prolin reicherten sich in den Pflanzen an (Abbildung 3.10). Auf die Enzymsynthese antioxidativ-wirkender Superoxid-Dismutasen (SOD) wirkte der CaCO_3 -Zusatz bei P-Exzess störend, was sich in einem Abfall der pflanzlichen SOD-Aktivitäten niederschlug.

Aus diesen Resultaten geht hervor, dass die Calciumcarbonat-Phosphat-Interaktionen nicht allein über die Bildung von kaum löslichen Ca-Phosphaten und die damit verknüpfte Vermeidung einer exzessiven P-Aufnahme erklärt werden kann. Sondern eine weitere Möglichkeit der Erklärung der nicht eindeutigen Calciumcarbonat-Phosphat-Interaktionen eröffnet sich aus der Auswertung der Mineralelementzusammensetzung im Pflanzenmaterial und zwar mit und ohne CaCO_3 -Zusatz im *Gefäßversuch A*. Diesem Experiment zufolge führen die nachgewiesenen Verschiebungen in den Mineralelement-Verhältnissen (Elementimbancen in Bezug auf Richtwerte von Bergmann (1992)) unter anderem bei Fe, Mn und Zn (Kapitel 3.2.1.3) nämlich zu physiologischen Störungen. Rückblickend auf den schon erwähnten Abfall der SOD-Aktivität gibt es z.B. Hinweise (Cakmak & Marschner, 1987; Cakmak *et al.*, 1997; Cakmak *et al.*, 1998), dass gerade die in den Versuchsgräsern dieser Arbeit in ihrer Aktivität am stärksten nachgewiesenen Zn-haltigen SOD-Isoenzyme (Cu/Zn-SOD, siehe Kapitel 4.5) bei gestörter Zn-Versorgung weniger synthetisiert werden.

Weiter bestätigen die Versuchsvarianten mit CaCO_3 -Zusatzdüngung in *Gefäßversuch A* zwar die Lehrmeinung dahingehend, dass auf Carbonatböden mit hohem Kalkgehalt eine Phosphatüberlast im Boden zu keiner exzessiven P-Anreicherung im Pflanzenmaterial führen muss. Die Versuchsergebnisse lieferten darüber hinaus aber nicht erwartete Informationen darüber, dass CaCO_3 den wachstumsstörenden Einfluss hoher mobiler Boden-P-Gehalte ebenso verstärken kann wie die biochemische Stressresponse. Ein solcher mutualer Effekt zwischen CaCO_3 und Phosphat in Bodensubstraten wurde in der Literatur kaum beschrieben (vgl. Cakmak *et al.* (1998)) und bedarf genauerer Untersuchungen auch im Hinblick auf Elementimbilanzen in Biomassen.

Für den Standort „Steudnitz“ ergibt sich aus dem bisher Gesagten, dass CaCO_3 dort keine Option für Sanierungsmaßnahmen darstellt. Die Bodensubstrate des Untersuchungsgebietes „Steudnitz“ sind ohnehin CaCO_3 -reich (Kapitel 4.1). Demzufolge wird der ursprünglich postulierte geochemische Stressor „P-Exzess“ in Anwesenheit von hohen Bodencarbonatgehalten und pH-Werten $>7,0$ kaum wirksam. Nach den Erkenntnissen aus dem *Gefäßversuch A* würde eine zusätzliche Ausbringung von CaCO_3 am Standort mehr schaden als nützen. Andererseits hat das natürliche vorkommende CaCO_3 aber in der Vergangenheit emittiertes Phosphat schon gebunden, d.h. den mit einer CaCO_3 -Maßnahme angestrebten Zustand über einen längeren Zeitraum schon erreicht. Es könnte deshalb auch eine Empfehlung dahingehend ausgesprochen werden, menschliche Aktivitäten, bei denen enorme P-Emissionen nicht verhindert werden können, an Standorte mit natürlichen CaCO_3 -Vorkommen zu verlagern. Dies ist sicher keine umweltschonende Alternative aber eine Belastung größerer Gebiete durch P-Austrag könnte so verhindert werden (Eine Option für Entwicklungsländer?).

Anmerkung: Bei P-Mangel konnten im *Gefäßversuch A* positive Wirkungen von CaCO_3 festgestellt werden. Die Sprossbiomasse stieg an. Ehret *et al.* (1990) führten dies bei Untersuchungen mit CaSO_4 an Gräsern wie *Triticum aestivum* L. und *Hordeum vulgare* L. auf den Ausgleich gestörter Ca-Element-Verhältnisse im Boden zurück. Die Zunahme der Wurzelbiomasse und der Rückgang des Spross/Wurzel-Verhältnisses stimuliert durch den P-Mangel (Jungk & Claassen, 1986) wurde durch die Pufferwirkung von HCO_3^- im Boden um pH 7,0 (Römheld, 1986; Zorn & Krause, 1999) noch verstärkt. Ohne CaCO_3 wurde der Boden-pH-Wert von Pflanzen in *Gefäßversuch A* stark abgesenkt. Auch Marschner *et al.* (2005) wiesen an *Triticum aestivum* L. auf neutralen Böden höhere Wurzelbiomassen nach als auf sauren Böden.

Der Stressindikator *freies* Prolin wurde bei P-Mangel mit CaCO_3 -Zugabe weniger synthetisiert (Abbildung 3.10). Ca wirkt hier dämpfend in der Signalkette der Prolinakkumulation (Sadiqov *et al.*, 2002). Die Abnahme antioxidativ wirkender Enzyme in *Zea mays* L., die Usuda & Shimogawara (1992) bei P-Mangel fanden, konnte durch den CaCO_3 -Zusatz in den Versuchsgräsern nicht verhindert werden, allenfalls etwas gemildert.

4.4.2. Bodenbehandlung mit Fe-Chelat

Angeregt durch die Arbeit von Samadi & Gilkes (1999), die wie später auch Marschner (2003) und Zorn *et al.* (2007) eine Herabsetzung der Fe-Verfügbarkeit bei hohen P-Gehalten auf sauren und auf CaCO_3 -reichen Böden für möglich halten, sollte bei den Untersuchungen zur Beeinflussung der pflanzlichen Stressreaktion bei hohen P-Überschüssen im Boden dieser Arbeit auch die Hypothese geprüft werden, ob eine Erhöhung verfügbarer Fe-Gehalte im Boden eine positive Wirkung auf die

untersuchten Gräser und auf deren Stressreaktion hat. Zu diesem Zweck war sowohl im *Gefäßversuch B* (mit standorttypischem Bodensubstrat) als auch im *Versuch C* (Freiland) eine Versuchsvariante mit Fe und Chelatdüngung ($2,4 \text{ mg Fe kg}^{-1} \text{ BoTM}$ im Gefäß bzw. 84 mg Fe m^{-2} im Freiland) vorgesehen. Fe wurde als Fe(III)-EDTA zugesetzt, um die Verfügbarkeit des Fe im Boden zu gewährleisten.

Ein sicherer Langzeitindikator für eine Stressabschwächung in Pflanzen ist dieser Arbeit zufolge das gesteigerte Wachstum. Eine Bodenbehandlung mit Fe-Chelat erhöhte in standorttypischem Bodensubstrat das Wachstum sowohl des Spross als auch der Wurzel (Tabelle 3.21 und Tabelle 3.26). Da die Elementanalyse der Gräser in diesen Versuchen ergab, dass die Düngung mit Fe-Chelat nicht generell den Fe-Gehalt in der Biomasse der Gräser erhöht, da nämlich eine Fe-Umverteilung zwischen Spross und Wurzel durch die Chelatapplikation zur Fe-Aufnahme in der Wurzel führen kann, ist ein veränderter Fe-Transport in die Wurzel hinein und innerhalb der Gesamtpflanze als ein spezifischer Chelateffekt anzusehen. Hierzu liefert die Literatur jedoch noch keine Argumente. Persönlichen Mitteilungen (Bergmann, 2007) entsprechend, dürften Polyamincarbonsäuren solche Transportumsteuerungseffekte initiieren. Im vorliegenden Experiment fand aber dieser Problemansatz keine Berücksichtigung, da die verstärkte Biosynthese von Siderophoren (Aminosäurederivate) bei Gräsern bekannt ist (Marschner, 2003; Singh *et al.*, 2005).

Untersuchungen mit Zn oder Cd zeigten, dass pflanzliche Phytosiderophoren neben der Fe-Aufnahme auch die Aufnahme dieser beiden Schwermetalle verbessern (Rauser, 1995; Ernst, 1997). In den Pflanzenversuchen erhöhte das gedüngte Fe-Chelat gleichermaßen die Zn-, Mn- und die Cd-Aufnahme der untersuchten Gräser. Die im Vergleich zu *Arrhenatherum elatius* phytochelatinproduktivere *Elymus repens* (Kapitel 4.6) wies dabei erwartungsgemäß (Dimkpa *et al.*, 2007; Gramss *et al.*, 2007) die höheren Gehalte an Schwermetallen auf. Nach scheinbar unspezifischer Auswahl der Schwermetalle durch Phytosiderophoren, differenzierten die Pflanzen allerdings deutlich bei deren Verlagerung in der Pflanze. Während Fe (Kapitel 3.5.1) und Zn (Kapitel 3.4.1) durch Chelatisierung besser in den Spross der Gräser verlagert wurden (von Wiren *et al.*, 1996), verblieb Cd überwiegend in den Wurzeln (Kapitel 3.6). Unabhängig von der chelatorbeeinflussten Schwermetallverlagerung in den Pflanzen steigerte eine Fe-Chelatdüngung aber selbst die Cd-Aufnahme in die untersuchten Gräser. Die hier gemessenen Cd-Konzentrationen waren aber nicht phytotoxisch wirksam (vgl. Bergmann, 1992). Dies zeigt deutlich, dass Fe-Chelat einen Siderophoreneffekt hat.

Auch bei den Untersuchungen mit Fe-Chelat wurden *freies* Prolin und lösliches Protein in Anlehnung an Bergmann *et al.* (1999), Bergmann *et al.* (2002), Mascher *et al.* (2005) zur Bestimmung der pflanzlichen Stressreaktion gemessen und zur Kompensation des enormen N_{\min} -Defizits im Boden zueinander ins Verhältnis gesetzt. Die Messungen in den *Versuchen B* und *C* ergaben, dass der Stressindikator *freies* Prolin mit Fe-Chelatdüngung im Verhältnis zum löslichen Protein abfiel. Dies ist eine weitere Bestätigung neben Wachstumssteigerungen, Zunahme der Photosyntheseleistung und Verbesserung der Elementversorgung für die zu Anfang dieses Kapitels aufgestellte Hypothese positiver Wirkungen von Fe-Chelat bei P-Überschüssen im Boden.

Die SOD-Response dagegen zeigte das Ergebnis des *freien* Prolin/Protein-Verhältnisses nicht an. Der zu erwartende Rückgang blieb aber nicht nur aus, die SOD-Aktivität stieg zum Teil sehr deutlich

mit Fe-Chelatdüngung an. Da dieses Ergebnis zuviel Raum für Spekulation bietet, soll es hier in dieser Arbeit nicht abschließend geklärt werden, weitere Forschungsarbeit wäre notwendig.

Abschließend sei vermerkt: Für den Standort „Steudnitz“ wäre eine Fe-Chelat-Düngung im Rahmen einer denkbaren Sanierung aufgrund der gerade festgestellten positiven Wirkungen auf die Versuchsgräser bei P-Überschuss und CaCO_3 im Boden durchaus sinnvoll, denn die genannten Faktoren P-Überschuss und CaCO_3 im Boden treffen für den Standort zu. Dazu kommt, dass die durchgeführten bodenchemischen Analysen ergaben, dass der Boden in Teilen des untersuchten Gebietes (unterer- und mittlerer Hangabschnitt) als geringer Fe-haltig einzustufen war (Kapitel 3.1.2.4). In solchen Fällen erhöhen Sanierungsstrategien, die die Verbesserung der Fe-Verfügbarkeit im Boden des Ökosystems zur Folge haben, zusätzlich das Pflanzenwachstum (Dimkpa *et al.*, 2007).

4.4.3. Pflanzenbehandlung mit 2-Aminoethanol

Dass Sprühapplikationen von Aminoalkoholen ertragstabilisierende Effekte auf Kulturpflanzen haben, ist heute bekannt (Bergmann *et al.*, 1991; Eckert *et al.*, 1992). Die Entwicklungen der letzten Jahre zeigten aber, dass ein Vertreter dieser Aminoalkohole das 2-Aminoethanol (2AE) gerade bei Trockenstress (Bergmann *et al.*, 1998; Bergmann *et al.*, 2002) oder oxidativem Stress generell (Mascher *et al.*, 2005; Bergmann *et al.*, 2007) die Bildung an erntbarer Biomasse und das Wurzelwachstum erhöht. Neben diesem morphologischen Effekt wirkte 2AE unter Stress photosynthese- und membranstabilisierend (Wejnar, 1989; Mascher *et al.*, 2005). Die Membranstabilisierung beruhte nach Mascher *et al.* (2005) auf der Aktivierung antioxidativer Mechanismen in Pflanzen (Elimination reaktiver Sauerstoffspezies). Bisher konnte schon eine Up-Regulation von Genaktivitäten für RUBISCO, Chaperase, Glutathion assoziierte Enzyme etc. festgestellt werden (Bergmann *et al.*, 2007; Puhl, 2007). Der Einsatz des Stresstoleranzaktivators 2AE im Zusammenhang mit hohem P-Gesamtgehalt im Boden aber noch in der Norm liegender Pflanzen-P-Gehalte sollte in dieser Arbeit (*Versuche B und C*) erstmals untersucht werden. Nach der Durchsicht aller Ergebnisse musste festgestellt werden, dass keine signifikante Biomassezunahme bei den hier erstmals getesteten Gräsern zu messen war (nur positive Tendenzen ohne Signifikanz bei $P < 0,05$). Auch wurde die Mineralelementzusammensetzung durch 2AE ($0,4 \text{ g m}^{-2}$ als wässrige 10 mM Lösung gesprüht) nicht verändert. Einzig eine leichte Erhöhung der K-Aufnahme konnte festgestellt werden, welche in *Arrhenatherum elatius* zu einer Veränderung des Na/K-Verhältnisses zu Gunsten des K führte. Eine Wirkung von 2AE, die Puhl (2007) bei Trockenstress fand.

Es bleibt nun zu klären, warum 2AE in den *Versuchen B und C* mit sehr hohen P-Gehalten im Boden nicht wirksam wurde. Erstens ergaben die Pflanzenanalysen, dass im Pflanzenmaterial keine P-Überlast, d.h. kein P-Stress, vorlag. Noch bedeutsamer für die ausbleibende Wirkung des 2AE auf die Versuchsgräser war sicherlich das extreme N_{\min} -Defizit des Bodens, wodurch die metabolische Anpassungsfähigkeit der Gräser limitiert wurde. D.h. ein enormes Defizit an pflanzenverfügbarem N (N_{\min}) kann erwartungsgemäß durch Stresstoleranzaktivatoren nicht in seiner Stressintensität vermindert werden (siehe auch Bergmann (2007) „Vortest Testfeld-Gessenwiese“). Bei zukünftigen

Anwendungen von 2AE auch für Phytoremediation und Sanierung sollte der N_{\min} -Status im Boden immer berücksichtigt werden.

4.5. Charakterisierung der Superoxid-Dismutase-Isoenzyme in *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und *Avena sativa*

Da die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) in biologischen Systemen eine primäre Stressantwort auf Stresseinwirkungen ist und Superoxid-Dismutasen (SOD, EC 1.15.1.1) für die ROS-Detoxifizierung die erste Entgiftungsstufe darstellen (Alscher *et al.*, 2002), wurde der SOD-Status in den Versuchspflanzen analysiert. In den durchgeführten Pflanzenversuchen (A, B und C) wurden in den untersuchten Gräsern *Arrhenatherum elatius*, *Elymus repens* und *Avena sativa* abhängig vom oxidativen Stresslevel je zwei Cu/Zn-SOD und eine Mn-SOD nachgewiesen. In der Literatur konnten hierzu noch keine Angaben gefunden werden.

Die Molekülgrößen der Isoenzyme von *Arrhenatherum elatius* und *Avena sativa* waren identisch, unterschieden sich aber von denen der *Elymus repens* (Kapitel 3.2.6.1). Alle nachgewiesenen SOD-Isoenzyme (zwei Cu/Zn-SOD, eine Mn-SOD) waren in Spross und Wurzel aktiv. Das war für die Stressstudien in dieser Arbeit ein wesentliches Resultat. Aktivitäten der Fe-SOD konnten dagegen in keiner der drei Spezies festgestellt werden. Die Cu/Zn-SOD₁ war das häufigste Isoenzym in den Wurzeln, wohingegen die höchste Aktivität der Cu/Zn-SOD₂ in den Sprossgeweben zu finden war. Da in dieser Arbeit erstmalig für die beiden standorttypischen Gräser der SOD-Status charakterisiert wurde, bestand keine Möglichkeit zu einem Ergebnisabgleich mit der Fachliteratur. Auch konnten in der Literatur keine Arbeiten zur Wirkung von P-Exzess auf SOD gefunden werden. Nur ein Hinweis zu P-Mangel und ROS-Bildung liegt vor (Swaraj *et al.*, 2007).

Aufgrund von SOD-Nachweisen vor allem in Getreidearten als Poaceae-Vertreter (Bridges & Salin, 1981; Cakmak *et al.*, 1998; Yu *et al.*, 1999; Palatnik *et al.*, 2002; Mascher *et al.*, 2005) kann angenommen werden, dass Cu/Zn-SOD in Süßgräsern ganz generell vorkommen. Aus der höheren Aktivität der Cu/Zn-SOD₂ in den Sprossgeweben und dem Wissen, dass die Lichtreaktion (Lichtatmung) in der Photosynthese ein hohes Aufkommen an ROS induziert (Dat *et al.*, 2000), ist nach Mascher *et al.* (2005) zu schlussfolgern, dass es sich bei der Cu/Zn-SOD₂ um ein in den Chloroplasten lokalisiertes Isoenzym handelt. Bei der Cu/Zn-SOD₁ aktiv in Wurzel und Spross handelt es sich wahrscheinlich um ein zytoplasmatisches Isoenzym. Die Mn-SOD ist nach Bowler *et al.* (1992) in den Mitochondrien lokalisiert. Wurde in älteren Untersuchungen ausdrücklich keine Mn-SOD in *Avena sativa* detektiert (Doll *et al.*, 1976), so stimmt dies nur unter der Einschränkung einer geringen oxidativen Stressbelastung. In dieser Arbeit wurde Mn-SOD auch in *Avena sativa* bei oxidativem Stress in Spross (Anlage 18) und Wurzel (Anlage 22) erstmalig nachgewiesen.

Die hier bestimmten Molekülgrößen der SOD-Isoenzyme aller drei Gräser (Tabelle 3.7) befanden sich sowohl bei den Cu/Zn-SOD mit 17 kDa bis über 32 kDa als auch bei der schwereren Mn-SOD mit 40-90 kDa in für Gräser üblichen Bereichen (Bridges & Salin, 1981; Miszalski *et al.*, 1998). Die große Übereinstimmung der Molekülgrößen in *Arrhenatherum elatius* und *Avena sativa* weist auf eine engere genetische Verwandtschaft beider Gräser im Vergleich zu *Elymus repens* hin. Und tatsächlich

gehören *Arrhenatherum elatius* und *Avena sativa* innerhalb der Familie der Süßgräser (Poaceae = Gramineae) beide zum Tribus Aveneae. *Elymus repens* dagegen gehört zum Tribus Triticeae (Hubbard, 1985).

Aus methodischer Sicht wäre es noch verfrüht den SOD-Status zur Indikation von P-Stress zu empfehlen. Die in der Diskussion ausgewiesenen Unsicherheiten bei der Interpretation von SOD-Aktivitätsänderungen unter Stress sind an dieser Stelle schon recht gut erklärbar. Wenn Zn, Cu und Mn essentielle Funktionsbausteine von SOD sind (Bowler *et al.*, 1992; Brioukhanov *et al.*, 2000) und Boden-P-Überschuss und CaCO₃-Anreicherung die Aufnahme von Zn, Mn u.a. Schwermetallen über bodenchemische und wurzelspezifische Vorgänge vermindern (Neilsen *et al.*, 1992; Cakmak *et al.*, 1998; Bujnovský, 2001; McLaren *et al.*, 2004), dann werden diese stressinduzierenden geochemischen Imbalancen trotzdem zu keiner SOD-Aktivitätssteigerung führen können, weil ganz einfach die SOD-Synthese limitiert ist und bei mangelhafter Zn-, Cu-, Mn- oder Fe-Bereitstellung die SOD-Funktionen gestört sind (Cakmak *et al.*, 1997; Cakmak *et al.*, 1998). Bedenkt man dann noch, dass die N-Limitation auch die Proteinbildung/Enzymbildung begrenzt (Tartachnyk & Rademacher, 2003; Gramss *et al.*, 2007), dann werden die methodischen Grenzen der biochemischen Stressindikation z.B. über SOD offenkundig. Zu empfehlen ist in diesem Fall, den ROS-Titer direkt zu messen. Das war in der Arbeit zu spät erkannt worden.

4.6. Artspezifische geo-pedogen beeinflusste Konkurrenzstrategien steuern die Ausbreitung von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* bei sich ändernden Umweltbedingungen am Standort „Steudnitz“

Im Laufe ihrer Evolution haben sich Arten wie *Arrhenatherum elatius* (= Glatthafer) und *Elymus repens* (= Quecke) auf eine Kombination von Umweltbedingungen und Ressourcen spezialisiert und so ihre ökologischen Nischen besetzt (Heinrich *et al.*, 2001). Innerhalb ihrer Nischen sind sie angepasste öko-physiologisch leistungsfähige überlegene Arten und verdrängen weniger gut angepasste Konkurrenten (Townsend *et al.*, 2003). Verändern sich die Umweltbedingungen infolge einer Störung im Habitat einer Art (*Arrhenatherum elatius*), wie durch die Emissionen bei der Düngemittelherstellung im Werk „Steudnitz“ geschehen (Heinrich, 1984), so dass sie auch für die andere Art (*Elymus repens*) akzeptabel werden, dann treten beide Arten als interspezifische Konkurrenten auf (Townsend *et al.*, 2003). Die Konkurrenzfähigkeit des einzelnen Pflanzenindividuums bzw. der einzelnen Art kann dabei ebenso wie die physiologische Leistungsfähigkeit, durch Stresszustände erheblich herabgesetzt werden. Letztlich gewinnt die Toleranz gegenüber den jeweiligen Umweltfaktoren an Bedeutung und wird durch die Störung zur strukturbestimmenden Größe für das Vegetationsmuster. In welcher Weise die Stresszustände in *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* ihre interspezifische Konkurrenzfähigkeit beeinflussen und ob physiologischbiochemischen Stressindikatoren für Regenerationsprozesse eine Indikationsgröße darstellen, soll jetzt anschließend näher betrachtet werden.

Als Heinrich (1984) von der Ausbreitung der Art *Elymus repens* in ein von *Arrhenatherum elatius* dominiertes Grasland berichtete, wurde klar, dass die Hauptursache der Quecken-Invasion in der

unterschiedlichen Stressreaktion der beiden Gräser auf die Elementeinträge in den Boden durch die Emissionen und Depositionen des Phosphatdüngemittelwerkes und somit in einer Bio-Geo-Interaktion zu suchen war. Spätere Ansätze in der Expertengruppe des Graduiertenkollegs „Funktions- und Regenerationsanalyse belasteter Ökosysteme“ erweiterten die Überlegungen mit dem „Dynamic-Filter-Model“ (Fattorini & Halle, 2005) um Bio-Bio-Interaktionen. Da die Bio-Bio-Interaktionen zwischen *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* bezüglich ihrer Ausbreitung und ihres Rückgangs am Belastungsstandort „Steudnitz“ aber den Bio-Geo-Interaktionen nachgeordnet sind, d.h. eher modulierend als Interferenz auf das Vegetationsmuster wirkten, wurden sie in dieser Arbeit nur als Diskussionspunkt hier berücksichtigt (für mehr siehe Zirr (2008)). Worin aber unterscheiden sich *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* nun tatsächlich? In den Untersuchungen dieser Arbeit fanden sich darauf folgende Antworten:

Die invasive Art *Elymus repens* war weitgehend toleranter gegenüber der Störung (Immissionen an: Na, Mg, Phosphat, F, Cl, Cd, U) als ihr Konkurrent *Arrhenatherum elatius*. So ermöglichte das größere Toleranzpotenzial von *Elymus repens*, im Vergleich zu *Arrhenatherum elatius*, ein besseres Spross- und Wurzelwachstum bei hoher P-Immissionslast (Kapitel 3.2.2). Ein solcher Vorteil ermöglichte dann wiederum *Elymus repens* unter diesen extremen Verhältnissen mehr Licht und mehr Nährstoffe aufzunehmen (Craine, 2005).

Bei der Zn-Verfügbarkeit, die durch Phosphat-Überschuss im Boden herabgesetzt war, wies *Elymus repens* gegenüber *Arrhenatherum elatius* auch ein besseres Zn-Aneignungsvermögen auf (siehe Gefäßversuch A, Kapitel 3.2.1). Dies geht ebenso aus Arbeiten von Cakmak *et al.* (1998) hervor, die nachwiesen, dass Vertreter des Tribus Triticeae (*Triticum aestivum* L. (= Weizen), *Secale cereale* L. (= Roggen)), zu dem auch *Elymus repens* gehört, im Vergleich zu den Aveneae (*Avena sativa* (= Hafer) und *Arrhenatherum elatius*) Zn auf Phosphat- und Carbonat-Böden besser aufnehmen können. Die Überlegenheit der Triticeae beruht dabei auf dem effektiveren Einsatz von Phytosiderophoren, wobei die Komplexbildung mit Zn zu einer besseren Wurzelaufnahme (Cakmak *et al.*, 1998) und besseren Sprossverteilung (von Wiren *et al.*, 1996) führt. Eine gute Zn-Versorgung kann ihrerseits die Biosynthese von Zn-haltigen Enzymen z.B. Cu/Zn-SOD (Cakmak & Marschner, 1988) verbessern und wirkt somit stoffwechselstabilisierend. Da Zn zugleich auch membran-stabilisierende Eigenschaften besitzt (Ehret *et al.*, 1990), könnte eine bei enormen P-Überschuss im Boden funktionstüchtige Wurzelmembran eine indirekte Erklärung sein für den geringeren K-Verlust von *Elymus repens* im Vergleich zu *Arrhenatherum elatius*, ebenso für die niedrigere P-Aufnahme trotz P-Überschuss.

Ein weiterer sehr wesentlicher Unterschied zwischen den beiden Gräsern wurde besonders im Modellversuch deutlich (Gefäßversuch A, Kapitel 3.2.4), dort fiel nämlich die Stressantwort von *Elymus repens* in Form des Stressindikators freies Prolin unter den gleichen Bedingungen z.B. enormer P-Überschuss geringer aus als bei *Arrhenatherum elatius*. Auch vor einer erhöhten Mehrbelastung durch oxidativen Stress scheint *Elymus repens* durch die aktivere Mn-SOD besser als *Arrhenatherum elatius* geschützt zu sein (Gefäßversuch B, Anlage 18). Fasst man nun die positiven Eigenschaften zusammen (Tabelle 4.1), ergibt sich eine deutliche Überlegenheit von *Elymus repens* am Standort „Steudnitz“ während und kurz nach der geo-pedochemischen Belastung (Störung).

Da sowohl *Arrhenatherum elatius* als auch *Elymus repens* im gemäßigten Klima Europas natürlich vorkommen (Hubbard, 1985), stellt sich jetzt natürlich auch die Frage, welche Eigenschaften besitzt *Arrhenatherum elatius*, die seine Dominanz (Überlegenheit) im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ vor der Störung (Heinrich, 1984) erklären. Trotz vieler vorteilhafter Eigenschaften (Tabelle 4.1) ist eine generelle Überlegenheit von *Elymus repens* am Standort „Steudnitz“ klar auszuschließen, allein die stressbedingte Konkurrenzschwäche von *Arrhenatherum elatius* durch die Störung (Immissionslast) verursacht, bedingte die Ausbreitung von *Elymus repens*. Denn 15 Jahre nach Beseitigung der Immissionsquelle und der damit einhergehenden Abschwächung des geo-pedochemischen Stressoreneinflusses nahm die Individuenanzahl pro Flächeneinheit (Regeneration) von *Arrhenatherum elatius* im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ wieder signifikant zu (Heinrich *et al.*, 2001). Für das gesamte Ökosystem bedeutet das Nachlassen der Störung (Abnahme der Belastungsstärke), dass die ursprünglichen Biotopfunktionen (siehe Heinrich, 1984) wieder hervortraten.

Tabelle 4.1: Eigenschaften von *Elymus repens* und *Arrhenatherum elatius* die ihre Verbreitung im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ zu Zeiten unterschiedlicher Bodenbelastung erklären

<i>Elymus repens</i>	<i>Arrhenatherum elatius</i>
<ul style="list-style-type: none"> ▫ Toleranter gegenüber hoher geo-pedochemischer Stressorenlast als <i>Arrhenatherum elatius</i> - Ausgeglichene Elementproportionen, insbesondere für Ca, Mn, P und Zn verbunden mit höherer Wurzelmembranstabilität wirken osmotischem Stress entgegen ▫ Aktivere Mn-SOD erhöht den Schutz vor oxidativem Stress 	<ul style="list-style-type: none"> ▫ Höherer Wurzelanteil im Verhältnis zur oberirdischen Biomasse, im Vergleich zu <i>Elymus repens</i>, wenn Bodenbelastung abnimmt - Größeres Wurzelraumvolumen erhöht Wasser- und Nährstoffaneignungsvermögen und verringert osmotischen Stress bei Trockenheit - Nährstoffrückhalt, -speicherung in der Wurzel ▫ Vermutlich toleranter gegenüber hohem CaCO₃-Anteil im Boden als <i>Elymus repens</i>
Fazit: Besser an geo-pedochemische Belastung angepasst	Fazit: Geringere Anpassung an geo-pedochemische Belastung → besser an Standort angepasst, wenn Belastung abnimmt

Auf dem für das mittlere Saaletal charakteristischen, kalkreichen und zeitweise trockenen Standort (Heinrich, 1984) kann *Arrhenatherum elatius* seine Vorteile gegenüber *Elymus repens* geltend machen. Neben einer vermutlich höheren Toleranz gegenüber CaCO₃ (höhere Chlorophyllfluoreszenz (Kapitel 3.2.3)), scheint vor allem sein im Vergleich zur Gesamtpflanze hoher Wurzelanteil (Kapitel 3.2.2) einen Konkurrenzvorteil am Standort „Steudnitz“ zu bieten. Die starke Durchwurzelung erschließt bei Wassermangel aber auch geringer Nährstoffdichte weiter entfernte Ressourcen im Boden (Craine, 2005) an die Konkurrenten, wie *Elymus repens*, mit wenigen wenn auch effektiven Wurzeln nicht heranreichen. Ein größeres Wurzelraumvolumen senkt somit bei Trockenheit den

osmotischen Stress (Mascher *et al.*, 2005; Wittenmayer & Merbach, 2005). Zusätzlich schützt ein im Verhältnis zur oberirdischen Biomasse größerer Wurzelanteil auch Nährstoffressourcen, deren Verlust, wie bei Grasflächen üblich, durch Herbivorie oder Mahd von der Pflanze schwerer ersetzt werden können (Craine, 2005).

Nach der „Intermediate-Disturbance-Hypothesis“ findet sich die höchste Diversität der Arten nach mittlerer Intensität oder mittlerer Frequenz einer Störung (Hobbs & Huenneke, 1992). Die Entwicklung im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ ist ein weiterer Beleg dieser These. Fand Heinrich (1984) zu einem Zeitpunkt hoher geo-pedochemischer Belastung Veränderungen der Vegetation hin zu wenigen aber an die Störung angepasster Arten vor, so nahm nach Beseitigung der Immissionsquelle und der damit einhergehenden Abschwächung des geo-pedochemischen Stressoreinflusses die Diversität der Arten wieder zu (Heinrich *et al.*, 2001).

Die Entwicklung im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ lässt aber ebenso erkennen, dass mit Nachlassen der Störung (Kapitel 4.1) Arten, deren Eigenschaften keinen Vorteil mehr bieten, von Arten durch interspezifische Konkurrenz verdrängt werden, die besser an die ursprünglichen Umweltbedingungen angepasst sind (Townsend *et al.*, 2003). *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* zeigen dies am Standort „Steudnitz“ beispielhaft.

Da sich die ursprüngliche Artenzusammensetzung eines gestörten Ökosystems, abhängig von der Intensität der Störung, allein oft erst nach langer Zeit oder auch nie wieder regeneriert, können menschliche Eingriffe wie Restauration oder Sanierung dann hilfreich sein und die Regeneration beeinflussen z.B. beschleunigen oder lenken. Die Wahl der Mittel richtet sich dabei an den Restaurationszielen aus (Hobbs & Harris, 2001; Miller & Hobbs, 2002). Besonders Erfolg versprechend erscheint es nach den in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnissen die artspezifischen vorteilhaften Eigenschaften auszunutzen.

4.7. Der Cd-Gehalt im Boden und die Risikobewertung der pflanzlichen Cd-Aufnahme am Standort „Steudnitz“

Cadmium ist ein für Mensch und Tier bereits in sehr geringen Konzentrationen toxisches Element (Merian *et al.*, 2004). dass vor allem durch menschliche Aktivitäten in die Umwelt und darüber auch in die Nahrungskette gelangt (Machelett *et al.*, 1996; Gray *et al.*, 2003; McLaren *et al.*, 2004; Lair *et al.*, 2006). Am Standort „Steudnitz“ wurde Cd als ein Begleitelement des Rohphosphates, dem Ausgangsrohstoff der P-Düngemittelherstellung, infolge der schlechten Produktionsbedingungen kontinuierlich freigesetzt und reicherte sich im Boden an (Metzner *et al.*, 1997).

Alle bisher zum Standort „Steudnitz“ veröffentlichten Cd-Bodengehalte waren wenig aussagekräftig und ließen kaum Ableitungen für eine Risikoabschätzung zu. Dies war ein wichtiger Grund in den für die Jahre 2003/2004 durchgeführten Bodenanalysen der vorliegenden Arbeit auch das Schwermetall Cd mit einzubeziehen.

Die am Standort „Steudnitz“ durchgeführten Bodenuntersuchungen (siehe Kapitel 3.1) wiesen neben verschiedenen Elementbelastungen auch eine Erhöhung von Cd im Boden aus. Der Prüfwert für

Flächen des Nahrungsmittelanbaus von $2 \text{ mg Cd kg}^{-1} \text{ BoTM}$ (BBodSchV, 2004) wurde dabei ebenso in allen Messpunkten (!) deutlich überschritten wie auch der obere von Scheffer & Schachtschabel (2002) ausgewiesenen Bodenrichtwert von $5 \text{ mg Cd kg}^{-1} \text{ BoTM}$. Gestützt werden die vorliegenden Daten von bisher noch unveröffentlichten Ergebnissen des Max-Planck-Institutes für Bio-Geo-Chemie (Rothe, 2003), die in Zusammenarbeit mit dem Graduiertenkolleg „Funktions- und Regenerationsanalyse belasteter Ökosysteme“ entstanden.

Neben den Cd-Bodengehalten sollte in der vorliegenden Arbeit die Risikobewertung am Standort „Steudnitz“ nicht ohne Wissen über die tatsächliche Cd-Aufnahme der Pflanzen gegeben werden. Denn die Menge des von Pflanzen aufgenommenen Cd hängt von der Cd-Mobilität im Boden ab (Gray *et al.*, 1999; McLaren *et al.*, 2004) und Pflanzen können erfahrungsgemäß diese Mobilität erhöhen indem sie den Boden-pH-Wert im wurzelnahen Raum (Rhizosphäre) selbst aktiv absenken (Römer *et al.*, 2000; Merbach, 2007). Stellvertretend wurden die Versuchsgräser der Pflanzenversuche B und C, die auf dem Cd-haltigen Boden des Standortes kultiviert wurden, untersucht.

Große Überraschungen blieben aus, die Cd-Aufnahme in die Gräser entsprach den Erwartungen (Kapitel 3.6). Im Vergleich mit Werten aus der Literatur (Gray *et al.*, 1999; Römer *et al.*, 2000; Bergmann *et al.*, 2007) war sie gemessen am Gesamt-Cd-Bodengehalt als gering einzustufen. Die leicht alkalischen pH-Werte (Gray *et al.*, 1998) in Verbindung mit CaCO_3 (Bujnovský, 2001) und die hohen P-Gehalte (Römer *et al.*, 2000) des Bodens reduzieren die Cd-Aufnahme in die Pflanzen. Ganz vermeiden ließ sich der Cd-Transfer dennoch nicht, da Pflanzen bei der aktiven Aufnahme von Zn, einem für die Pflanzen notwendigen Nährstoff, über transmembrane Transporter der ZIP-Familie (ZRT, IRT-like Protein), welche ZRT (zinc regulated transporter) und IRT (ion regulated transporter) beinhaltet, kaum zwischen Cd und Zn unterscheiden (Guerinot, 2000). Die besonders phytochelatineffiziente Spezies *Elymus repens* (Kapitel 4.6) akkumulierte, wie schon an Zn, im Modellversuch (Gefäßversuch B) in den Wurzeln erwartungsgemäß die höchsten Mengen an Cd.

Doch nach scheinbar unspezifischer Auswahl bei der Aufnahme von Cd und Zn, differenzierten die Versuchsgräser indes deutlich bei deren weiteren Transport. Während Zn auch im Spross der untersuchten Gräser höhere Gehalte aufwies, blieb Cd überwiegend auf die Wurzeln beschränkt (Kapitel 3.6). Nach Eintritt des Cd in die Pflanze über die Rhizodermis oder über das corticale Wurzelgewebe erfolgt eine Anreicherung im Xylem bzw. Apoplast und/oder über den symplastischen Weg eine Komplexierung durch Verbindungen wie organische Säuren und Phytochelatine (Rauser, 1995; Hart *et al.*, 1998; Pence *et al.*, 2000). Durch die Strategie der Cd-Festlegung kommt es einerseits zur Elementanreicherung in der Wurzel durch $\text{Cd}^{2+}/\text{H}^{+}$ -Antiportsystem u. Mg-ATP abhängigen Phytochelatine-Cd-Transporter, d.h. nur geringe Cd-Mengen gelangen in den Spross, andererseits steht nur ein geringer Anteil des Cd in aktiver Form zur Verfügung, um in den Stoffwechsel einzugreifen (Hart *et al.*, 1998). Beeinträchtigungen oder gar Schäden an den Pflanzen durch die Toxizität des Cd können in Höhe der gemessenen Cd-Konzentrationen nach Vergleich mit wirkenden Cd-Konzentrationen aus Bergmann (1992) sicher ausgeschlossen werden.

Da in einem Teil dieser Arbeit ferner Maßnahmen zur Beeinflussung der Stressreaktion (wie N- und Fe-Düngung, 2AE-Applikation) untersucht wurden, sollten diese selbstverständlich auch in ihrer

Wirkung auf die pflanzliche Cd-Aufnahme geprüft werden. Im Modellversuch (*Gefäßversuch B*) wurde die Wirkung stressbeeinflussender Maßnahmen auf die Cd-Aufnahme besonders deutlich. Dort erhöhten die Düngung von N und Fe-Chelat die Gesamt-Cd-Aufnahme (Entzug) gegenüber den Kontrollen (Kapitel 3.6). Möglich wird diese Mehraufnahme bei Düngung von N (als NH_4NO_3) und Fe-Chelat (als Fe-EDTA) weil beide Anwendungen die Cd-Mobilität im Boden erhöhen (Mitchell *et al.*, 2000; Gray *et al.*, 2002; Schönbuchner, 2002). NH_4NO_3 setzt dabei Cd von Ionenaustauscher-Oberflächen im Boden frei (Mitchell *et al.*, 2000; Gray *et al.*, 2002) und Fe-Chelat erhöht die Cd-Aufnahme in die Pflanze über seinen Siderophoreneffekt (für mehr siehe Kapitel 4.4.2). Beide Anwendungen empfehlen sich somit für Phytoremediations- und Sanierungsmaßnahmen gemäß Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV, 2004) als Dekontaminations- und Immobilisierungsmaßnahmen auch für Cd. Die Fe-Chelatdüngung besitzt gegenüber der N-Düngung noch den Vorteil, dass bei gleichem Cd-Entzug aus dem Boden weniger Biomasse anfällt (weniger Abfall), da mehr Cd in den Pflanzen akkumuliert, während bei der N-Düngung der gesteigerte Cd-Entzug auf der Biomassezunahme beruhte.

Nach Auswertung der Boden- und Pflanzenuntersuchungen kann nun abschließend festgestellt werden, dass derzeit am Standort „Steudnitz“ trotz erhöhter Cd-Gehalte im Boden kein Risiko einer hohen Cd-Aufnahme in die untersuchten Gräser *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* und darüber in die Nahrungskette besteht. Das Niveau des Boden-pH-Wertes ($\geq 7,0$) in Verbindung mit den hohen Anteilen von CaCO_3 und Phosphat halten das Schwermetall Cd im Boden zurück. Eine Auswaschung durch Niederschläge in nennenswertem Umfang wird dadurch ebenfalls verhindert (Gray *et al.*, 1999; Gray *et al.*, 2003; McLaren *et al.*, 2004).

Die Cd-Festlegung im Boden bedingt aber auch das die erhöhten Cd-Bodengehalte am Standort „Steudnitz“ längerfristig bestehen bleiben. Sollten die Flächen zukünftig einmal einer anderen Nutzungsform als der derzeitigen, einem wissenschaftlichem Beobachtungsgebiet (entspricht einer Brache), zugeführt werden, wäre zu beachten, dass der Gesetzgeber in Deutschland für die Flächennutzung im Zusammenhang mit schädlichen Stoffen wie Cd in der deutschen Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV, 2004) Vorgaben gemacht hat. Danach ist Nahrungsmittelanbau (Garten, Acker) am Standort „Steudnitz“ mit einem Prüfwert von $2 \text{ mg Cd kg}^{-1} \text{ BoTM}$ nach (BBodSchV, 2004) derzeit nicht zulässig (vergl. dazu Cd-Bodengehalte in Abbildung 3.5). Sollte zu einem späteren Zeitpunkt dennoch ein Nahrungsmittelanbau angestrebt werden, sind im Vorfeld Kontrollen des Cd-Bodengehaltes und gegebenenfalls Sanierungsmaßnahmen notwendig. Die wie gezeigt phytoextraktionsfördernden Maßnahmen NH_4NO_3 -Düngung und Fe-EDTA Anwendung könnten dann mit bedacht werden.

5. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit Bio-Geo-Interaktionen, speziell mit pflanzlichen Stressreaktionen der beiden Grasarten *Arrhenatherum elatius* (= Glatthafer) und *Elymus repens* (= Quecke) auf die geo-pedochemische Belastung in der Nähe eines ehemaligen Phosphatdüngemittelwerkes in Steudnitz bei Jena in Thüringen.

Den Anlass für die vorliegende Arbeit im Rahmen des Graduiertenkollegs „Funktions- und Regenerationsanalyse belasteter Ökosysteme“ bildete die Situation am Standort „Steudnitz“. Die jahrelangen Staubemissionen des ehemaligen Düngemittelwerkes bestehend aus den Elementen Natrium, Calcium, Magnesium, Phosphor, Kalium, Fluor, Chlor, Cadmium, Uran und weiteren lagerten sich im Umland ab. Die damit einhergehenden gravierenden Veränderungen der bodenchemischen und bodenphysikalischen Faktoren wirkten sich negativ auf die Diversität der Arten des Ökosystems aus. Erst nach der Schließung des Werkes begann eine Regeneration des gestörten Gebietes.

Die vorliegende Arbeit bildete einen Teil des Regenerationsprozesses vom Standort „Steudnitz“ im Modell nach. Folgender Sachverhalt wurde zur Grundlage der Arbeit: Mit Beginn der Emissionen ging die Verbreitung der Art *Arrhenatherum elatius* zurück, während *Elymus repens* bei zunehmender Belastung zu einer der dominanten Arten im gestörten Ökosystem wurde. Nach der Stilllegung des Emittenten kehrte sich dieser Prozess wieder um. *Elymus repens* wies rückläufige Zahlen auf und der Bestand von *Arrhenatherum elatius* erholt sich seither.

Im Rahmen der vorgelegten Arbeit wurden folgende Arbeitsschritte durchgeführt, die folgende Zielstellungen beinhalten:

- 1) Charakterisierung und Dokumentation der pflanzlichen Stressreaktion in Verbindung mit Phosphatüberschüssen im Boden, da auf diesem Gebiet bisher nur sehr wenig Forschungsarbeit geleistet wurde.
- 2) Bodenuntersuchungen am Standort „Steudnitz“ zur Bestimmung standort-prägender bodenchemischer und bodenphysikalischer Faktoren sowie die Einschätzung der insbesondere durch Phosphatüberschuss bedingten aktuellen geo-pedochemischen Belastungssituation
- 3) Untersuchungen zum Stressverhalten (als Resultat von Bio-Geo-Interaktionen) der beiden am Standort „Steudnitz“ vorkommenden Grasarten *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* auf Boden-substrat mit Phosphatüberschuss wie auch Phosphatmangel im Modellversuch (*Gefäßversuch A*)
- 4) Untersuchungen zum Einfluss des Stickstoff-Versorgungsstatus in Pflanzen auf die Stressreaktion bei Phosphatbelastung (*Gefäßversuch B*, *Versuch C* im Freiland)
- 5) Untersuchungen zur Beeinflussung der artspezifischen geo-pedogen beeinflussten Stressreaktionen der beiden standorttypischen Gräser *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* durch eine Bodenbehandlung mit Calciumcarbonat (*Gefäßversuch A*), Eisenchelate sowie eine Pflanzenbehandlung mit 2-Aminoethanol (*Gefäßversuch B*, *Versuch C* im Freiland) für spätere denkbare Phytoremediations- und Sanierungsmaßnahmen

Anhand morphologischer und physiologisch-biochemischer Indikatoren sollten die Stressreaktionen der genannten Grasarten auf geo-pedochemische Stressoren analysiert werden, um neben der

Prozessanalyse auch neue Erkenntnisse für die Anwendung von Stressindikatoren in der pflanzlichen Stressanalytik zu gewinnen. Ferner sollen die Konkurrenzvorteile von *Arrhenatherum elatius* infolge abnehmender geo-pedogener Belastungen im Vergleich zu *Elymus repens* diskutiert werden, die ihre Populationsdynamik am Standort „Steudnitz“ vor, während und nach den Belastungen durch die Staubemissionen des ehemaligen Emittenten erklären könnten.

Die Bodenuntersuchungen am Standort „Steudnitz“ zur Bestimmung standort-prägender bodenchemischer und bodenphysikalischer Faktoren sowie die Einschätzung der insbesondere durch Phosphatüberschuss bedingten aktuellen geo-pedochemischen Belastungssituation führten zu folgenden Ergebnissen:

- Die für die Jahre 2003/2004 erhobenen Bodendaten zeigten im Vergleich zu früheren Untersuchungen aus der Literatur anhaltend sehr hohe Gehalte an Calcium und Phosphat. Vor allem das Phosphat in seiner bedeutenderen pflanzenverfügbaren Form (*Olsen P*) war mit Gehalten von bis zu 300 mg Phosphor kg⁻¹ Bodentrockenmasse (BoTM) im Vergleich zu Normwerten aus der Literatur bis zum 10fachen erhöht. Eine starke physiologische Belastung oder gar toxische Wirkungen auf die Pflanzen am Standort können aber nach den in der vorliegenden Arbeit gewonnen Erkenntnissen aus dem Modelversuch (*Gefäßversuch A*) ausgeschlossen werden.
- Ebenfalls in erhöhter Konzentration im Boden des Standortes konnten 2003/2004 die Elemente Cadmium und Natrium gemessen werden. Während Cadmium im Muschelkalkverwitterungsboden mit seinem hohen Calciumcarbonatanteil und seinem leicht alkalischen Boden-pH-Wert im Vergleich zu älteren Daten aus der Literatur persistent im Boden verharrete, nahmen die Natriumgehalte weiter ab. Eine Gefährdung durch die hohen Cadmiumgehalte im Boden konnte nach Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit ausgeschlossen werden.
- Der Boden-pH-Wert hat sich 2003/2004 am Standort überwiegend auf das ortsübliche Niveau abgesenkt. Nur an den besonders exponierten Stellen in unmittelbarer Nähe des ehemaligen Düngemittelwerkes am Unterhang waren noch leicht erhöhte pH-Werte zu messen. Die ebenfalls gemessenen Bodengehalte von Eisen, Kalium, Magnesium, Mangan und Zink lagen in ihrer Höhe im ortsüblichen Mittel.
- Eine besondere Rolle im Boden des Standortes „Steudnitz“ kommt dem dort lange unterschätzten pflanzenverfügbaren Stickstoff (N_{\min}) zu. Unabhängig von der Emissionsbelastung konnte er in der vorliegenden Arbeit als einer der für den Standort prägensten Faktoren ermittelt werden. Der N_{\min} war an allen Messpunkten des Untersuchungsgebietes mit Werten von 0,6 bis 2,1 mg N_{\min} kg⁻¹ BoTM sehr gering.
- Nachdem der Elementstatus im Boden des Standortes „Steudnitz“ hinreichend für die Jahre 2003/2004 aufgeklärt wurde, sollte abschließend die allgemeine Belastungssituation am Standort 15 Jahre nach Einstellung der Emissionen ermittelt werden. Dafür wurden alle Messpunkte am Standort „Steudnitz“ anhand ihrer relevanten geo-pedochemischen Parameter statistisch in einer hierarchischen Clusteranalyse mit vorgeschalteter Faktorenanalyse gewichtet. Die generelle Erkenntnis aus der Clusteranalyse war, dass trotz rückläufiger Bedeutung der Einzelelemente das

gesamte Untersuchungsgebiet noch als belastet einzustufen war. Die einzelnen Messpunkte wurden ferner in drei Gruppen (Cluster) unterschiedlicher Belastung eingeteilt. Die höchste geo-pedochemische Belastung wiesen danach zum Zeitpunkt der Analyse 2003/2004 die Messpunkte in unmittelbarer Nähe des ehemaligen Emittenten am unteren Hangabschnitt des Untersuchungsgebietes auf. Hier fanden sich auch für den Zeitraum der Probennahme 2003/2004 die höchsten Gehalte von Calcium, Natrium und Phosphat sowie des Schwermetalls Cadmium. Eine Gruppe mittlerer Belastung bildeten die sich anschließenden Messpunkte am Mittelhang gefolgt von den am geringsten belasteten Messpunkten am Oberhang.

Die Untersuchungen zum Stressverhalten (als Resultat von Bio-Geo-Interaktionen) der beiden am Standort „Steudnitz“ vorkommenden Grasarten *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* auf Bodensubstrat mit Phosphatüberschuss wie auch Phosphatmangel im Modellversuch (*Gefäßversuch A*) ergaben folgende Resultate:

- Die Untersuchungen eines Phosphatexzess im Boden sind im Gegensatz zum gut untersuchten Phosphatmangel aufgrund der Seltenheit eines solchen Vorkommens ein bisher wenig von der Wissenschaft beachtetes Thema. Diese Arbeit sollte daher einen Beitrag zur pflanzenbiologischen Rolle von Phosphatexzess leisten. Ein erstes wichtiges Ergebnis war das parallel mit dem Anstieg der Phosphatkonzentration im Boden die Phosphatkonzentrationen in den pflanzlichen Geweben sowohl von *Arrhenatherum elatius* als auch von *Elymus repens* anstiegen. Dabei wurde deutlich, dass *Arrhenatherum elatius* bei enormen Phosphatüberschuss deutlich mehr Phosphat anreicherte als *Elymus repens*, die ihre Phosphatgehalte auch noch beim höchsten untersuchten Bodenphosphatgehalt von 1000 mg Phosphor kg⁻¹ BoTM um die Toxizitätsgrenze 10000 µg Phosphor g⁻¹ Spross-trockenmasse konstant hielt. Es war auch festzustellen, dass die relative Phosphataufnahme in beide Grasarten mit dem steigendem Phosphatangebot abnahm.

Bei der Analyse weiterer Elemente fiel auf, dass Phosphatexzess die pflanzliche Aufnahme von Zink, Mangan und Eisen behinderte. Die Elemente Calcium und Magnesium wurden in den Wurzelapoplasten festgelegt.

In seiner Wirkung auf die Morphologie zeigte das Übermaß an Phosphat im Bodensubstrat des Modellversuches (*Gefäßversuch A*) sein Potenzial als geo-pedochemischer Stressor. So traten bei Phosphatüberschuss im Boden auch „Starrtrachthabitus“ und „Welkeerscheinungen“ an den Blättern auf. Die Biomassebildung der beiden Gräser folgte mit steigendem Phosphatgehalt im Boden erwartungsgemäß dem Dosis-Wirkungsprinzip, d.h. sie fiel oberhalb eines maximal tolerierbaren Boden-Phosphat-Gehaltes aufgrund sich ändernder Nährstoffaufnahme und physiologischer Veränderungen in den Pflanzen deutlich ab.

Eine der deutlichsten Veränderungen bei Phosphatüberschuss im Boden waren die um ein Vielfaches erhöhten Gehalte von *freiem* Prolin. Diese als Stressindikator und als osmoprotektiv geltende Aminosäure ist ein eindeutiger Beweis, dass Phosphatexzess im Boden in Pflanzen Stress auslöst (!). Für Phosphat ist dies der erste Nachweis. Diese Erkenntnis ermöglicht nun auch die Verwendung des Indikators *freies* Prolin für die pflanzliche Stressindikation bei Phosphatüberschuss im Boden. Vorbedingung hierfür ist ein ausreichendes Stickstoffangebot. Bei o.g.

Stickstoffmangel muss ein Prolin/Protein-Quotient ($\text{Prolin-N/Protein-N} = \text{Stressquotient}$) gebildet werden. Anders als *freies* Prolin, dass auch bei enormen Phosphatüberschuss seine Eignung als Stressindikator unter Beweis stellte, spiegelte die speziell für die Indikation des oxidativen Stress noch besser geeignete Aktivität der Superoxid-Dismutase (SOD) die Stressintensität nicht über alle untersuchten Bodenphosphatgehalte wieder. Bei sehr hohem Phosphatüberschuss wurde die Enzymsynthese so stark gestört, dass ein Abfall der SOD-Aktivität einsetzte.

- Auch das Gegenteil ein Defizit an Phosphat im Boden wirkte sich grundsätzlich negativ auf die beiden Grasarten aus. So konnte nachgewiesen werden, dass bei geo-pedogen-bedingtem Phosphatmangel auch die Phosphatkonzentrationen in beiden Grasarten parallel dazu abfielen. Die Pflanzen reagierten mit einer steigenden Phosphataufnahme und nutzten so das vorhandene Bodenphosphatangebot bei der geringsten untersuchten Phosphatkonzentration im Boden bis zu 100 % aus. Die dafür notwendige hohe Phosphatverfügbarkeit im Boden erreichten die Gräser durch Absenken des Boden-pH-Wertes über das aktive Ausscheiden von Protonen (H^+).

Des Weiteren war zu beobachten, dass die Phosphat-Mangel-Ernährung sich auch störend auf die Morphologie der untersuchten Spezies auswirkte. Die Biomassebildung der Pflanzen war geringer und das Spross/Wurzel-Verhältnis war zugunsten der Wurzel verschoben, um die potenzielle Oberfläche für die Phosphataufnahme zu vergrößern. Da Phosphat auch eine zentrale Größe im Energiestoffwechsel ist, senkte der Mangel an Phosphat auch die Photosyntheseleistung von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens*, was im Umkehrschluss über die geringere CO_2 -Fixierung eine Erklärung für den Rückgang der Biomasse sein kann.

Als ein sehr guter Stressindikator der Bio-Geo-Interaktionen, in der vorliegenden Arbeit erstmals auch für Phosphatmangel untersucht, erwies sich hier bei ausreichendem Stickstoffangebot im *Gefäßversuch A* die Aminosäure *freies* Prolin. Die Konzentration an *freiem* Prolin stieg mit der Abnahme des Bodenphosphatgehaltes an. Diese Erkenntnis ist umso bedeutender, da der Anteil des gesamten löslichen Proteins durch den Phosphatmangel noch gesenkt wurde. Die ferner zu beobachtende Zunahme der SOD-Aktivität in den Grasarten bei Phosphatmangel bestätigt nicht nur den allgemeinen Anstieg der Stressreaktion, sondern belegt direkt die Beteiligung reaktiver Sauerstoffspezies (oxidativer Stress).

Die Untersuchungen zum Einfluss des Stickstoff-Versorgungsstatus in Pflanzen auf die Stressreaktion bei Phosphatbelastung (*Gefäßversuch B*, *Versuch C* im Freiland) führten zu folgenden Resultaten:

- Die Gabe einer Stickstoffdüngung (200 mg N kg^{-1} BoTM *Gefäßversuch B* bzw. 7 g N m^{-2} *Versuch C* als NH_4NO_3) bewirkte im Vergleich zu den unbehandelten stickstoffdefizitären Kontrollen auch auf dem belasteten Boden als Bio-Geo-Interaktion eine enorme Biomassesteigerung der Versuchsgräser am Standort und im Modellexperiment, was einem ersten fundamentalen Nachweis für einen Mangel an pflanzenverfügbaren Stickstoff (als wesentlichem Stressor des beprobten Standortes) darstellte. Gleichzeitig konnte eine Abnahme der Stressbelastung anhand untersuchter Stressindikatoren gezeigt werden. Ein beobachteter Nebeneffekt des verbesserten Wachstums war eine, auf die Gesamtpflanze bezogen, vermehrte Elementaufnahme

aus dem Boden. Speziell die gesteigerte Extraktion des Schwermetalls Cadmium aus dem Boden nach Stickstoffdüngung (als NH_4NO_3) ist eine wichtige Erkenntnis für Phytoremediationsmaßnahmen.

Die Untersuchungen zur Beeinflussung der artspezifischen geo-pedogen beeinflussten Stressreaktionen der beiden standorttypischen Gräser *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* durch eine Bodenbehandlung mit Calciumcarbonat (*Gefäßversuch A*), Eisenchelat sowie eine Pflanzenbehandlung mit 2-Aminoethanol (*Gefäßversuch B*, *Versuch C* im Freiland) für spätere denkbare Phytoremediations- und Sanierungsmaßnahmen ergaben folgende Ergebnisse:

- Die Anwendung von Calciumcarbonat ($6500 \text{ mg CaCO}_3 \text{ kg}^{-1} \text{ BoTM Gefäßversuch A}$) verhinderte primär bei Phosphatexzess toxische Konzentrationsanstiege von Phosphat in den Versuchsgräsern, d.h. Calciumcarbonat reduzierte die Pflanzenverfügbarkeit von Phosphat im Boden. Die Versuchsergebnisse lieferten darüber aber auch nicht erwartete Informationen, dass Calciumcarbonat den wachstumsstörenden Einfluss von Phosphatüberschuss und die biochemische Stressresponse zusätzlich noch steigert. Ein solcher Effekt zwischen Calciumcarbonat und Phosphat in Bodensubstraten wurde in der Literatur kaum beschrieben. Der Einsatz von Calciumcarbonat bei der Sanierung belasteter Standorte sollte deshalb genau abgewogen werden.
- Die Bodenbehandlung mit Eisen ($2,4 \text{ mg Fe kg}^{-1} \text{ BoTM Gefäßversuch B}$ bzw. $84 \text{ mg Fe m}^{-2} \text{ Versuch C}$) als Chelat (Fe(III)-EDTA) hatte auf standorttypischem Bodensubstrat eine wachstumsfördernde Wirkung auf die Versuchsgräser. Auch die Stressindikation, stellvertretend sei das *freie* Prolin/Protein-Verhältnis erwähnt, zeigte einen stressmildernden Einfluss der Eisenchelatbehandlung. Da aber die Elementanalyse der Gräser in diesen Versuchen ergab, dass die Düngung mit Eisenchelat nicht generell den Eisengehalt in der Biomasse der Gräser erhöht, da nämlich eine Eisenumverteilung zwischen Spross und Wurzel durch die Chelatapplikation zur Eisenaufnahme in der Wurzel führen kann, ist ein veränderter Eisentransport in die Wurzel hinein und innerhalb der Gesamtpflanze als ein spezifischer Chelateffekt anzusehen. Hierzu liefert die Literatur jedoch noch keine Argumente.

In den Pflanzenversuchen erhöhte das gedüngte Eisenchelat gleichermaßen die Zink-, die Mangan- und die Cadmiumaufnahme der untersuchten Gräser. Die gemessenen Cadmiumkonzentrationen waren aber nicht phytotoxisch wirksam. Dieses Ergebnis zeigt deutlich, dass Eisenchelat einen Siderophoreneffekt hat.

- Trotz der hohen in die Sprühapplikation von 2-Aminoethanol ($0,4 \text{ g m}^{-2}$ als wässrige 10 mM Lösung) gesetzten Erwartungen blieb eine Wirkung des sonst vor osmotischem wie oxidativen Stress schützenden Stresstoleranzaktivators aus. Als Ursache kommen die fehlende Phosphatüberlast und mehr noch das starke Defizit an verfügbarem Stickstoff im Bodensubstrat des Standortes „Steudnitz“ in Frage. Ein starkes Defizit an verfügbarem Stickstoff, das die metabolische Anpassungsfähigkeit der Versuchsgräser limitiert, kann in seiner Stressintensität durch einen Stresstoleranzaktivator erwartungsgemäß nicht vermindert werden.

Im Rahmen der Untersuchungen für die vorliegende Arbeit ergaben sich folgende neue Erkenntnisse für die Anwendung von Stressindikatoren in der pflanzlichen Stressanalytik:

- Die Konzentration des Stressindikators *freies* Prolin korreliert positiv mit der Zunahme wie auch der Abnahme der verfügbaren Bodenphosphatkonzentration. Die gesteigerte Biosynthese von *freiem* Prolin unter Stress setzt jedoch eine uneingeschränkte Stickstoffbereitstellung für die Prolinsynthese voraus.
- Liegt im Bodensubstrat ein Mangel an pflanzenverfügbarem Stickstoff vor, dann verursacht ein Stickstoffdefizit Abweichungen zu dem aufgezeigten Zusammenhang zwischen Stress und der Konzentration an *freiem* Prolin. Daraus ergeben sich methodische Konsequenzen für die Stressindikation mittels *freiem* Prolin. Zur Lösung dieses Problems wurde in der vorliegenden Arbeit die Konzentration an *freiem* Prolin in den Pflanzen zur Konzentration an löslichem Protein ins Verhältnis gesetzt. Diese Quotientenbildung ($C_{\text{Prolin}}/C_{\text{Protein}}$) löste das Problem für die unterschiedlichen Stickstoffversorgungsstufen.
- Für die in der Arbeit verwendeten Grasspezies gelang der Nachweis von Superoxid-Dismutase-Isoenzymen. Es wurden je eine Cu/Zn-SOD₁ und eine Cu/Zn-SOD₂ sowie eine Mn-SOD bestimmt.

Die Diskussion der Populationsdynamik von *Arrhenatherum elatius* und *Elymus repens* und die interspezifischer Wechselwirkungen am Standort „Steudnitz“ vor, während und nach den Belastungen durch die Staubemissionen ergab aufgrund der sich ändernden geo-pedogenen Bedingungen folgende Aussagen:

- Die Art *Elymus repens* war toleranter gegenüber der hohen geo-pedochemischen Stressorenlast am Standort „Steudnitz“, was ihre Ausbreitung während der Belastung durch die Staubemissionen des ehemaligen Phosphatdüngemittelwerkes erklärt. Die Dominanz von *Arrhenatherum elatius* vor und seine Bestandszunahme nach abnehmender der Bodenbelastung weist auf seine bessere Anpassung an die ursprünglichen Bedingungen hin. Sein im Verhältnis zur oberirdischen Biomasse größerer Wurzelanteil und seine vermutlich größere Toleranz gegenüber Calciumcarbonat bieten *Arrhenatherum elatius* dort Konkurrenzvorteile.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die Biodiversität der Arten und die wechselnden Vegetationsmuster am Standort „Steudnitz“ maßgeblich von geo-pedogenen Parametern bestimmt werden. Wurden während der Hauptbelastung durch den Emittenten vorrangig Bodenparameter wie Natrium, pH-Wert und Phosphatgehalt als Ursachen bestimmt, wurde mit Nachlassen der Belastung der pflanzenverfügbare Stickstoff zur wichtigsten strukturbestimmenden Größe. Zugleich konnte gezeigt werden, dass sich mit dem gezielten Einsatz stressmodulierender Maßnahmen Remediationsprozesse steuern lassen.

Damit liefern die vorliegenden Untersuchungen zum pflanzlichen Stressverhalten wichtige Erkenntnisse zur Bewertung und Interpretation einer phosphatbedingten Belastungssituation bei geringer Pflanzenverfügbarkeit an Stickstoffverbindungen und zusätzlich nachgewiesener moderater geogener Belastung. Zugleich eröffnen die Untersuchungen aber auch Möglichkeiten zur Steuerung des Regenerationsprozesses und Remediationsvorgehens auf diesen Standorten.

6. Quellennachweis

Internet

BASF (2005) Produkt-Information Soda Natriumcarbonat

<http://www.basf.de/de/produkte/chemikalien/anorganika/kali/soda>

FH-Jena (2006) Datenbank der Klimatologischen Messstation der Fachhochschule Jena

<http://wetter.mb.fh-jena.de/station/>

“Mansfeld's World Database of Agricultural and Horticultural Crops” (2002) The information of the database is based on "Hanelt, P. & Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (Eds.) 2001: Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops. 1-6: 3716 pp.".

<http://mansfeld.ipk-gatersleben.de/mansfeld/Query.htm>

Literaturverzeichnis

Agboma PC, Jones MGK, Peltonen-Sainio P, Rita H & Pehu E (1997) Exogenous glycinebetaine enhances grain yield of maize, sorghum and wheat grown under two supplementary watering regimes. *Journal of Agronomy & Crop Science* **178**, 29-37.

Akkipeddi AS, Noormets A, Deo BK, Karnosky DF & Podila GK (1999) Gene structure and expression of the aspen cytosolic copper/zinc-superoxide dismutase (PtSodCcl). *Plant Science* **143**, 151-162.

Alef K (1991) *Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie - Aktivitäten, Biomasse, Differenzierung*, Landsberg/Lech: Ecomed, 284 S.

Ali G, Srivastava PS & Iqbal M (1999) Proline accumulation, protein pattern and photosynthesis in *Bacopa Monniera* regenerants grown under NaCl stress. *Biologia Plantarum* **42**, 89-95.

Allard F, Houde M, Krol M, Ivanov A, Humer NPA & Sarhan F (1998) Betaine improves freezing tolerance in wheat. *Plant Cell Physiology* **39**, 1194-1202.

Alscher RG, Donahue JL & Cramer CL (1997) Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells. *Physiologia Plantarum* **100**, 224-233.

Alscher RG, Erturk N & Heath LS (2002) Role of superoxide dismutase (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany* **53**, 1331-1341.

Asada K, Kiso K & Yoshikawa K (1974) Univalent Reduction of Molecular Oxygen by Spinach Chloroplasts on Illumination. *Journal of Biological Chemistry* **249**, 2175-2181.

Bates LS, Waldren RP & Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* **39**, 205-207.

- Baumgarten A (2000) Extraktion von pflanzenverfügbarem Phosphat: CAL- und DL-Methode im Vergleich. *Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft landwirtschaftlicher Versuchsanstalten Österreichs*, 39-40.
- BBodSchV (2004) Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung vom 12. Juli 1999 (BGBl. I S. 1554), geändert durch Artikel 2 der Verordnung vom 23. Dezember 2004 (BGBl. I S. 3758): Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit, 39 S.
- Beauchamp C & Fridovich I (1971) Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* **44**, 276-287.
- Becana M, Paris FJ, Sandalio LM & del Rio LA (1989) Isoenzymes of Superoxide Dismutase in Nodules of *Phaseolus vulgaris* L., *Pisum sativum* L., and *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Plant Physiology* **90**, 1286-1292.
- Bergmann H (1996) Physiologische Wirkungen von biogenen Aminen bei Pflanzen. In *Biogene Amine in der Ernährung* [DM Beutling, Hrsg.]. Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag, 31-58.
- Bergmann H (2007) Persönliche Mitteilung.
- Bergmann H, Eckert H, Weber C & Roth D (1991) Einfluß von Monoethanolamin auf den Ertrag von Kulturpflanzen I. Untersuchungen zum Einfluß von Monoethanolamin auf den Kornertrag und den N-Haushalt von Getreide (Mitscherlichgefäß-Experimente). *Journal of Agronomy & Crop Science* **166**, 117-126.
- Bergmann H, Lippmann B, Leinhos V, Tiroke S & Machelett B (1999) Activation of Stress Resistance in Plants and Consequences for Product Quality. *Journal of Applied Botany* **73**, 153-161.
- Bergmann H, Lippmann B, Voigt C-D, Mascher R, Neagoe A, Puhl M & Oelmüller R (2007) Influence of natural amines on heavy metal tolerance and accumulation in plants. *6th Symposium on remediation in Jena "Jenaer Sanierungskolloquium": Microbe-mineral interfaces at heavy metal polluted sites*, 26.
- Bergmann H, Machelett B, Lippmann B & Friedrich Y (2001) Influence of heavy metal on the accumulation of trimethylglycine, putrescine and spermin in food plants. *Amino Acids* **20**, 325-329.
- Bergmann H, Rost S & Machelett B (2002) Erhöhung der Trockentoleranz sowie Veränderungen in der Glycinbetain- und Prolinakkumulation bei *Hordeum vulgare* L. durch Cholin- und 2-Aminoethanolapplikation. *Journal of Applied Botany* **76**, 87-95.
- Bergmann H, Tiroke S, Leinhos V, Werner T & Eckert H (1998) Influence of natural amines on yield and fertilizer efficiency in cereals under unfavourable environments. In *Sustainable Agriculture for Food, Energy and Industry* [N El Bassam, RK Behl and B Prochnow, Hrsg.]. London: James & James (Science Publishers), 531-536.
- Bergmann W (1992) *Nutritional Disorders of Plants - Development, Visual and Analytical Diagnostics*, Jena: Gustav-Fischer-Verlag, 742 S.

- Blanke V, Schulze B, Gerighausen U, Küster S, Rothe R, Schulze H & Sineriz M (2007) The Power of regeneration: lessons from a degraded grassland. *Restoration Ecology* **15**, 307-311.
- Bohner A & Sobotik M (2000) Der Landschaftsraum und seine Rahmenbedingungen für die Grünlandbewirtschaftung im Mittleren Steirischen Ennstal. Irding: Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft Gumpenstein, 10 S.
- Bowler C, van Montagu M & Inzé D (1992) Superoxide Dismutase and Stress Tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **43**, 83-116.
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* **72**, 248-254.
- Bray L, Chriqui D, Gloux K, Le Rudulier D, Meyer M & Peduzzi J (1991) Betaines and free amino acids in salt stressed vitroplants and winter resting buds of *Populus trichocarpa* x *deltoides*. *Physiologia Plantarum* **83**, 136-143.
- Bridges SM & Salin ML (1981) Distribution of Iron-Containing Superoxide Dismutase in Vascular Plants. *Plant Physiology* **68**, 275-278.
- Brioukhanov A, Netrusov A, Sordel M, Thauer RK & Shima S (2000) Protection of *Methanosarcina barkeri* against oxidative stress: identification and characterization of an iron superoxide dismutase. *Archives of Microbiology* **174**, 213-216.
- Brunold C, Rüegesegger A & Brändle R (1996) *Stress bei Pflanzen - Ökologie, Physiologie, Biochemie, Molekularbiologie*, Jena: Gustav-Fischer-Verlag, 407 S.
- Bühl A & Zöfel P (2002) *SPSS 11 - Einführung in die moderne Datenanalyse unter Windows*, 8. Aufl., München: Pearson Studium, 757 S.
- Bujnovský R (2001) Heavy metal uptake from naturally contaminated soil and its adjustment through liming. *Ekológia* **20**, 234-241.
- Cakmak I (2005) The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **168**, 521-530.
- Cakmak I & Marschner H (1986) Mechanism of phosphorus-induced zinc deficiency in cotton. I. Zinc deficiency-enhanced uptake rate of phosphorus. *Physiologia Plantarum* **68**, 483-490.
- Cakmak I & Marschner H (1987) Mechanism of phosphorus-induced zinc deficiency in cotton. III. Changes in physiological availability of zinc in plants. *Physiologia Plantarum* **70**, 13-20.
- Cakmak I & Marschner H (1988) Increase in Membrane Permeability and Exudation in Roots of Zinc Deficient Plants. *Journal of Plant Physiology* **132**, 356-361.
- Cakmak I, Öztürk L, Eker S, Torun B, Kalfa HI & Yilmaz A (1997) Concentration of Zinc and Activity of Copper/Zinc-Superoxide Dismutase in Leaves of Rye and Wheat Cultivars Differing in Sensitivity to Zinc Deficiency. *Journal of Plant Physiology* **151**, 91-95.
- Cakmak I, Torun B, Erenoglu B, Öztürk L, Marschner H, Kalayci M, Ekiz H & Yilmaz A (1998) Morphological and physiological differences in the response of cereals to zinc deficiency. In *Wheat: Prospects for Global Improvement Proceedings of the 5th International Wheat*

- Conference, 10-14 June 1996, Ankara, Turkey* [H-J Braun, F Altay, WE Kronstad, SOS Beniwal and A McNab, Hrsg.]. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 427-435.
- Casano LM, Martin M, Zapata JM & Sabater B (1999) Leaf age- and paraquat concentration-dependent effects on the levels of enzymes protecting against photooxidative stress. *Plant Science* **149**, 13-22.
- Chambers JC (1997) Restoring alpine ecosystems in the United States. In *Restoration Ecology and Sustainable Development* [KM Urbanska, NR Webb and PJ Edwards, Hrsg.]. Cambridge: Cambridge University Press, 161-187.
- Chang Y-C & Lee T-M (1999) High temperature-induced free proline accumulation in *Gracilaria tenuistipitata* (Rhodophyta). *Botanical Bulletin of Academia Sinica* **40**, 289-294.
- Chiera J, Thomas J & Rufty T (2002) Leaf initiation and development in soybean under phosphorus stress. *Journal of Experimental Botany* **53**, 473-481.
- Claassen N (2007) The Rhizosphere and its Significance for Food Security. *International Seminar on Food, Security, Biomass Energy and Livelihood Strategies*, 10.
- Corkidi L, Rowland DL, Johnson NC & Allen EB (2002) Nitrogen-fertilization alters the functioning of arbuscular mycorrhizas at two semiarid grasslands. *Plant and Soil* **240**, 299-310.
- Craft CB, Vymazal J & Richardson CJ (1995) Response of Everglades Plant Communities to Nitrogen and Phosphorus Addition. *Wetlands* **15**, 258-271.
- Craine JM (2005) Reconciling plant strategy theories of Grime and Tilman. *Journal of Ecology* **93**, 1041-1052.
- Das P, Samantaray S & Rout GR (1997) Studies on cadmium toxicity in plants: A review. *Environmental Pollution* **98**, 29-36.
- Dat J, Vandenabeele S, Vranová E, van Montagu M, Inzé D & Van Breusegem F (2000) Dual action of the active oxygene species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Science* **57**, 779-795.
- Delgado A & Torrent J (1997) Phosphate-rich soils in the European Union: estimating total plant-available phosphorus. *European Journal of Agronomy* **6**, 205-214.
- Delgado A & Torrent J (1999) The release of phosphorus from heavily fertilized soils to dilute electrolytes: effect of soil properties. *Agronomy* **19**, 395-404.
- Delgado A & Torrent J (2000) Phosphorus Forms and Desorption Patterns in Heavily Fertilized Calcareous and Limed Acid Soils. *Soil Science Society of America Journal* **64**, 2031-2037.
- Dimkpa C, Svatos A & Kothe E (2007) Siderophores: Promoting Plant Growth by Biofertilization and Bioremediation. *International Seminar on Food, Security, Biomass Energy and Livelihood Strategies*, 13.
- Dixit V, Pandey V & Shyam R (2001) Differential antioxidativ responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv Azad). *Journal of Experimental Botany* **52**, 1101-1109.

- Doll S, Lütz C & Ruppel HG (1976) Biochemische und cytologische Untersuchungen zur Chloroplastenentwicklung III. Superoxiddismutase in Etioplasten von *Avena sativa* L. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* **80**, 166-176.
- Eckert H, Bergmann H, Eckert G & Müller H (1992) Einfluss von Aminoalkoholen auf die Glycinbetainakkumulation in Sommergerstenpflanzen bei mäßigem Trockenstreß. *Zeitschrift für Angewandte Botanik* **66**, 124-129.
- Egle K (2002) Untersuchungen zum Phosphor-, Kupfer-, Zink- und Cadmium-Aneignungsvermögen von drei Lupinenarten und Weidelgras unter Berücksichtigung wurzelbürtiger organischer Säuren. *Dissertation*, Georg-August-Universität Göttingen.
- Ehret DL, Redmann RE, Harvey BL & Cipywnyk A (1990) Salinity-induced calcium deficiency in wheat and barley. *Plant and Soil* **128**, 143-151.
- El-Shintinawy F & El-Ansary A (2000) Differential effect of Cd and Ni on amino acid metabolism in soybean seedlings. *Biologia Plantarum* **43**, 79-84.
- Elstner EF (1996) Die Sauerstoffaktivierung als Basis pflanzlicher Stressreaktion. In *Stress bei Pflanzen - Ökologie, Physiologie, Biochemie, Molekularbiologie* [C Brunold, A Rüegsegger and R Brändle, Hrsg.]. Jena: Gustav-Fischer-Verlag, 347-362.
- Ernst WHO (1997) Wirkungen erhöhter Bodengehalte von Arsen, Blei und Cadmium auf Pflanzen. In *Beurteilung von Schwermetallen in Böden von Ballungsgebieten: Arsen, Blei und Cadmium* [G Kreysa and J Wiesner, Hrsg.]. Frankfurt a. M.: Dechema e.V., 319-355.
- Fattorini M & Halle S (2005) The dynamic environmental filter model: how do filtering effects change in assembling communities after disturbance? In *Assembly rules and restoration ecology - bridging the gap between theory and practice*. [VM Temperton, RJ Hobbs, T Nuttle and S Halle, Hrsg.]. Washington, D.C.: Island Press, 96-114.
- Fiedler HJ & Rösler HJ (1993) *Spurenelemente in der Umwelt*, 2. Aufl., Jena: Gustav-Fischer-Verlag, 385 S.
- Flügge U-I (1999) Phosphate Translocators in Plastids. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**, 27-45.
- Foyer CH & Noctor G (2000) Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling. *New Phytologist* **146**, 359-388.
- Fredeen AL, Rao IM & Terry N (1989) Influence of Phosphorus Nutrition on Growth and Carbon Partitioning in *Glycine max*. *Plant Physiology* **89**, 225-230.
- Fridovich I (1989) Superoxide Dismutase: An Adaption to a Paramagnetic Gas. *Journal of Biological Chemistry* **264**, 7761-7764.
- Friedrich Y (2002) Physiologische und biochemische Indikation des Belastungs- und Adaptionszustandes von Pflanzen im Emissionsgebiet des ehemaligen Phosphat-Düngemittelwerkes Steudnitz. *Dissertation*, Friedrich-Schiller-Universität Jena.

- Funk W, Dammann V & Donnevert G (2005) *Qualitätssicherung in der Analytischen Chemie: Anwendungen in der Umwelt-, Lebensmittel- und Werkstoffanalytik, Biotechnologie und Medizintechnik*, 2. Aufl., Weinheim: Wiley-VCH, 274 S.
- Gramss G, Büchel G & Bergmann H (2007) Soil biotope modification by continuous supply of citric acid and ammonium traces: A path to acceptable phytoextraction techniques? *6th Symposium on remediation in Jena "Jenaer Sanierungskolloquium": Microbe-mineral interfaces at heavy metal polluted sites*, 33.
- Gray CW, McLaren RG & Roberts AHC (2003) Cadmium leaching from some New Zealand pasture soils. *European Journal of Soil Science* **54**, 159-166.
- Gray CW, McLaren RG, Roberts AHC & Condon LM (1998) Sorption and desorption of cadmium from some New Zealand soils: effect of pH and contact time. *Australian Journal of Soil Research* **36**, 199-216.
- Gray CW, McLaren RG, Roberts AHC & Condon LM (1999) Cadmium phytoavailability in some New Zealand soils. *Australian Journal of Soil Research* **37**, 461-477.
- Gray CW, Moot DJ, McLaren RG & Redcliffe T (2002) Effect of nitrogen fertiliser applications on cadmium concentrations in durum wheat (*Triticum turgidum*) grain. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* **30**, 291-299.
- Grinsted MJ, Hedley MJ, White RE & Nye PH (1982) Plant-induced changes in the rhizosphere of rape (*Brassica napus* var. Emerald) seedlings. I. pH change and the increase in P concentration in the soil solution. *New Phytologist* **91**, 19-29.
- Grünhage L & Jäger H-J (1982) Kombinationswirkungen von SO₂ und Cadmium auf *Pisum sativum* L. 2. Enzyme, freie Aminosäuren, organische Säuren und Zucker. *Zeitschrift für Angewandte Botanik* **56**, 167-178.
- Guerinot ML (2000) The ZIP family of metal transporters. *Biochimica Biophysica Acta* **1465**, 190-198.
- Hart JJ, Welch RM, Norvell WA, Sullivan LA & Kochian LV (1998) Characterization of Cadmium Binding, Uptake, and Translocation in intact Seedlings of Bread and Durum Wheat Cultivars. *Plant Physiology* **116**, 1413-1420.
- Heinrich W (1984) Über den Einfluß von Luftverunreinigungen auf Ökosysteme - III. Beobachtungen im Immissionsgebiet eines Düngemittelwerkes. *Wissenschaftliche Zeitschrift der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Naturwissenschaftliche Reihe* **33**, 251-289.
- Heinrich W, Perner J & Marstaller R (2001) Regeneration und Sekundärsukzession - 10 Jahre Dauerflächenuntersuchungen im Immissionsgebiet eines ehemaligen Düngemittelwerkes. *Zeitschrift für Ökologie und Naturschutz* **9**, 237-253.
- Heldt HW, Chon CJ, Maronde D, Herold A, Stankovic ZS, Walker DA, Kraminer A, Kirk MR & Heber U (1977) Role of Orthophosphate and Other Factors in the Regulation of Starch Formation in Leaves and Isolated Chloroplasts. *Plant Physiology* **59**, 1146-1155.

- Heldt HW, Flüge U-I & Borchert S (1991) Diversity of specificity and function of phosphate translocators in various plastids. *Plant Physiology* **95**, 341-343.
- Hobbs RJ & Harris JA (2001) Restoration Ecology: Repairing the Earth's Ecosystems in the New Millenium. *Restoration Ecology* **9**, 239-246.
- Hobbs RJ & Huenneke LF (1992) Disturbance, Diversity, and Invasion: Implications for Conservation. *Conservation Biology* **6**, 324-337.
- Hubbard CE (1985) *Gräser*, 2. Aufl., Stuttgart: Eugen-Ulmer-Verlag, 475 S.
- Johnson NC, Graham JH & Smith FA (1997) Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist* **135**, 575-585.
- Jungk A & Claassen N (1986) Availability of phosphate and potassium as the result of interactions between root and soil in the rhizosphere. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* **149**, 411-427.
- Jungk A & Claassen N (1989) Availability in soil and acquisition by plants as the basis for phosphorus and potassium supply to plants. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* **152**, 151-157.
- Karpinski S (1994) Copper-zinc superoxide dismutases in scots Pine (*Pinus Sylvestris* L.) analysis of isoforms, cDNA and environmental stress responses. *Thesis*, Swedish University of Agricultural Sciences Umea.
- Kavi Kishor PB, Hong Z, Miao G-H, Hu C-AA & Verma DPS (1995) Overexpression of d1-Pyrroline-5-Carboxylate Synthetase Increases Proline Production and Confers Osmotolerance in Transgenic Plants. *Plant Physiology* **108**, 1387-1394.
- Kawaguchi T, Noji S, Uda T, Nakashima Y, Takeyasu A, Kawai Y, Takagi H, Tohyama M & Taniguchi N (1989) A Monoclonal Antibody against COOH-terminal Peptide of Human Liver Manganese Superoxide Dismutase. *Journal of Biological Chemistry* **264**, 5762-5767.
- Kinraide TB (1999) Interactions among Ca²⁺, Na⁺ and K⁺ in salinity toxicity: quantitative resolution of multiple toxic and ameliorative effects. *Journal of Experimental Botany* **50**, 1495-1505.
- Klein H, Priebe A & Jäger H-J (1981) Grenzen der Belastbarkeit von Kulturpflanzen mit dem Schwermetall Cadmium. *Zeitschrift für Angewandte Botanik* **55**, 295-308.
- Kreeb K (1996) Salzstress. In *Stress bei Pflanzen - Ökologie, Physiologie, Biochemie, Molekularbiologie* [C Brunold, A Rüegsegger and R Brändle, Hrsg.]. Jena: Gustav-Fischer-Verlag, 149-172.
- Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. *Nature* **227**, 680-685.
- Lair GJ, Gerzabek MH, Haberhauer G, Jakusch M & Kirchmann H (2006) Response of the sorption behavior of Cu, Cd, and Zn to different soil managment. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **169**, 60-68.
- Larcher W (1987) Stress bei Pflanzen. *Naturwissenschaften* **74**, 158-167.

- Larcher W (2003) *Physiological Plant Ecology*, 4. Aufl., Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag, 513 S.
- Leinhos V & Bergmann H (1995a) Changes in Yield, Lignin Content and Protein Patterns of Barley (*Hordeum vulgare* cv. Alexis) Induced by Drought Stress. *Journal of Applied Botany* **69**, 206-210.
- Leinhos V & Bergmann H (1995b) Effect of Amino Alcohol Application, Rhizobacteria and Mycorrhiza Inoculation on the Growth, the Content of Protein and Phenolics and the Protein Pattern of Drought Stressed Lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. "Amerikanischer Brauner"). *Zeitschrift für Angewandte Botanik* **69**, 153-156.
- Lichtenthaler HK (1996) Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants. *Plant Physiology* **148**, 4-14.
- Lippmann B, Leinhos V, Dautz S & Bergmann H (1998) Effect of rhizobacteria and natural amines on root formation and nutrient uptake under drought. In *Sustainable Agriculture for Food, Energy and Industry* [N El Bassam, RK Behl and B Prochnow, Hrsg.]. London: James & James (Science Publishers), 461-465.
- Loneragan JF, Grove TS, Robson AD & Snowball K (1979) Phosphorus toxicity as a factor in zinc-phosphorus interactions in plants. *Soil Science Society of America Journal* **43**, 966-972.
- Machelett B, Grün M & Bergmann H (1996) Die Schwermetallaufnahme der Pflanzen. In *Mengen- und Spurenelemente, 16. Arbeitstagung* [M Anke, W Arnhold, H Bergmann, R Bitsch, W Dorn, G Flachowsky, M Glei, B Groppel, M Grün, H Gürtler, I Lombeck, B Luckas, D Meißner, W Merbach, M Müller and HJ Schneider, Hrsg.]. Jena: Harald-Schubert-Verlag, 323-337.
- Mäkelä P, Mantila J, Hinkkanen R, Pehu E & Peltonen-Sainio P (1996) Effect of foliar applications of glycinebetaine on stress tolerance growth and yield of spring cereals and summer turnip rape in Finland. *Journal of Agronomy & Crop Science* **176**, 223-234.
- Manuel-PAM-2000 (1993) *Portable Fluorometer PAM-2000 and Data Acquisition Software DA-2000*, 2. Aufl., Effeltrich, Germany: Heinz Walz GmbH, 199 S.
- Marschner H (2003) *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2. Aufl., Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo: Academic Press, 889 S.
- Marschner H, Römheld V, Horst WJ & Martin P (1986) Root-induced changes in the rhizosphere: Importance for the mineral nutrition of plants. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* **149**, 441-456.
- Marschner H & Schropp A (1977) Vergleichende Untersuchungen über die Empfindlichkeit von 6 Unterlagensorten der Weinrebe gegenüber Phosphatinduziertem Zink-Mangel. *Vitis* **16**, 79-88.
- Marschner P, Solaiman Z & Rengel Z (2005) Growth, phosphorus uptake, and rhizosphere microbial-community composition of a phosphorus-efficient wheat cultivar in soils differing in pH. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **168**, 343-351.

- Mascher R (2002) Untersuchung physiologischer und biochemischer Prozesse der Schwermetall-toleranz bei Pflanzen. *Dissertation*, Friedrich-Schiller-Universität Jena.
- Mascher R, Nagy E, Lippmann B, Hörnlein S, Fischer S, Scheiding W, Neagoe A & Bergmann H (2005) Improvement of tolerance to paraquat and drought in barley (*Hordeum vulgare* L.) by exogenous 2-aminoethanol: effects on superoxide dismutase activity and chloroplast ultrastructure. *Plant Science* **168**, 691-698.
- Matysik J, Alia, Bhalu B & Mohanty P (2002) Molecular Mechanisms of quenching of reactive oxygene species by proline unter stress in plants. *Current Science* **82**.
- McIntyre S & Hobbs RJ (1999) A Framework for Conceptualizing Human Effects on Landscape and Its Relevance to Management and Research Models. *Conservation Biology* **13**, 1282-1292.
- McLaren RG, Clucas LM, Taylor MD & Hendry T (2003) Leaching of macronutrients and metals from undisturbed soils treated with metal-spiked sewage sludge. 1. Leaching of macronutrients. *Australian Journal of Soil Research* **41**, 571-588.
- McLaren RG, Clucas LM, Taylor MD & Hendry T (2004) Leaching of macronutrients and metals from undisturbed soils treated with metal-spiked sewage sludge. 2. Leaching of metals. *Australian Journal of Soil Research* **42**.
- McNeil SD, Nuccio ML & Hanson AD (1999) Betaines and Related Osmoprotectants. Targets for Metabolic Engineering of Stress Resistance. *Plant Physiology* **120**, 945-949.
- Mehta SK & Gaur JP (1999) Heavy-metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*. *New Phytologist* **143**, 253-259.
- Mengel K, Breiningen MT & Bübl W (1984) Bicarbonate, the most important factor inducing iron chlorosis in vine grapes on calcareous soil. *Plant and Soil* **81**, 333-344.
- Merbach W (2007) Persönliche Mitteilung.
- Merian E, Anke M, Ihnat M & Stoeppler M (2004) *Elements and their Compounds in the Environment - Occurrence, Analysis and Biological Relevance*, 2. Aufl., Weinheim: Wiley-VCH, 1774 S.
- Metzner K, Friedrich Y & Schäller G (1997) Bodenparameter eines Immissionsgebietes vor und nach der Schließung eines Düngemittelwerkes (1979-1997). *Beiträge zur Ökologie (Jena)* **3**, 51-75.
- Meyer S & Genty B (1999) Heterogeneous inhibition of photosynthesis over the leaf surface of *Rosa rubiginosa* L. during water stress and abscisic acid treatment: induction of a metabolic component of limitation of CO₂ diffusion. *Planta* **210**, 126-131.
- Miller JR & Hobbs RJ (2002) Conservation Where People Live and Work. *Conservation Biology* **16**, 330-337.
- Miszalski Z, Slesak I, Niewiadomska E, Baczek-Kwinta R, Lüttge U & Ratajczak R (1998) Subcellular localisation and stress response of superoxide dismutase isoforms from leaves in the C₃-CAM intermediate halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Plant, Cell and Environment* **21**, 169-179.

- Mitchell LG, Grant CA & Racz GJ (2000) Effect of nitrogen application on concentration of cadmium and nutrient ions in soil solution and in durum wheat. *Canadian Journal of Soil Science* **80**, 107-115.
- Neilsen D, Neilsen GH, Sinclair AH & Linehan DJ (1992) Soil phosphorus status, pH and manganese nutrition of wheat. *Plant and Soil* **145**, 45-50.
- Neilsen GH & Hogue EJ (1986) Some factors affecting leaf zinc concentration of apple seedlings grown in nutrient solution. *HortScience* **21**, 434-436.
- Ockenden I & Lott JNA (1988) Mineral storage in *Cucurbita* embryos. III. Calcium storage as compared with storage of magnesium, potassium, and phosphorous. *Canadian Journal of Botany* **66**, 1486-1489.
- Olsen SR, Cole CV, Watanabe FS & Dean LA (1954) Estimation of available Phosphorus in soils by extraction with Sodium Bicarbonate. *Circular of the United States Department of Agriculture* **939**, 1-19.
- Orlowska E, Zubek S, Jurkiewicz A, Szarek-Lukaszewska G & Turnau K (2002) Influence of restoration on arbuscular mycorrhiza of *Biscutella laevigata* L. (Brassicaceae) *Plantago lanceolata* L. (Plantaginaceae) from calamine spoil mounds. *Mycorrhiza* **12**, 153-160.
- Palatnik JF, Valle EM, Federico ML, Gómez LD, Melchiorre MN, Diaz Paleo A, Carrillo N & Acevedo A (2002) Status of antioxidant metabolites and enzymes in a catalase-deficient mutant of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Science* **162**, 363-371.
- Pence NS, Larsen PB, Ebbs SD, Letham DLD, Lasat MM, Garvin DF, Eide D & Kochian LV (2000) The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator. *PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)* **97**, 4956-4960.
- Perner J, Voigt W, Bährmann R, Heinrich W, Marstaller R, Fabian B, Gregor K, Lichter D, Sander FW & Jones TH (2003) Responses of athropods to plants diversity: changes after pollution cessation. *Ecography* **26**, 788-800.
- Puhl M (2007) Wirkung einer Saatgutvorbehandlung mit 2-Aminoethanol auf Wachstum, Genexpression und Stresstoleranz von Gerstenpflanzen (*Hordeum vulgare* L.). *Diplomarbeit*, Friedrich-Schiller-Universität Jena.
- Raghothama KG (1999) Phosphate Acquisition. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**, 665-693.
- Rausser WE (1995) Phytochelatins and Related Peptides. *Plant Physiology* **109**, 1141-1149.
- Robbins CW, Westermann DT & Freeborn LL (1999) Phosphorus Forms and Extractability from Three Sources in a Recently Exposed Calcareous Subsoil. *Soil Science Society of America Journal* **63**, 1717-1724.
- Römer W (2006) Neuere Erkenntnisse zur Phosphataufnahme von Pflanzen - Literaturbefunde. *Archives of Agronomy and Soil Science* **52**, 1-17.

- Römer W, Kang D-K, Egle K, Gerke J & Keller H (2000) The acquisition of cadmium by *Lupinus albus* L., *Lupinus angustifolius* L., and *Lolium multiflorum* Lam. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **163**, 623-628.
- Römheld V (1986) pH-Veränderungen in der Rhizosphäre verschiedener Kulturpflanzenarten in Abhängigkeit vom Nährstoffangebot. *Kali-Briefe (Büntehof)* **18**, 13-30.
- Root RA, Miller RJ & Koeppe DE (1975) Uptake of cadmium its toxicity, and effects on the iron to zinc ratio in hydroponically grown corn. *Journal of Environmental Quality* **4**, 473-476.
- Rothe J (2003) Persönliche Mitteilung.
- Sadiqov ST, Akbulut M & Ehmedov V (2002) Role of Ca²⁺ in Drought Stress Signaling in Wheat Seedlings. *Biochemistry Moscow* **67**, 491-497.
- Samadi A & Gilkes RJ (1999) Phosphorus Transformations and Their Relationships with Calcareous Soil Properties of Southern Western Australia. *Soil Science Society of America Journal* **63**, 809-815.
- Sanità di Toppi L & Gabrielli R (1999) Response to Cadmium in higher Plants. *Environmental and Experimental Botany* **41**, 105-130.
- Saradhi PP, Alia, Arora S & Prasad KVSK (1995) Proline Accumulates in Plants Exposed to UV Radiation and Protects Them against UV-Induced Peroxidation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **209**, 1-5.
- Sarker AM, Rahman MS & Paul NK (1999) Effect of Soil Moisture on Relative Leaf Water Content, Chlorophyll, Proline and Sugar Accumulation in Wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science* **183**, 225-229.
- Schachtschabel P (1973) Beziehungen zwischen dem Phosphorgehalt in Böden und jungen Haferpflanzen. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* **135**, 31-43.
- Schaller G, Bährmann R, Heinrich W, Sander FW & Voigt W (1987) Über den Einfluß von Luftverunreinigungen auf Ökosysteme - XII. Untersuchungen zur Stabilität und Belastbarkeit von Grasland-Ökosystemen. *Wissenschaftliche Zeitschrift der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Naturwissenschaftliche Reihe* **36**, 323-338.
- Scheffer F & Schachtschabel P (2002) *Lehrbuch der Bodenkunde*, 15. Aufl., Heidelberg: Spektrum-Akademischer-Verlag, 593 S.
- Schmidt W & Schikora A (2001) Different pathways are involved in phosphate and iron stress-induced alterations of root epidermal cell development. *Plant Physiology* **125**, 2078-2084.
- Schönbuchner H (2002) Untersuchungen zu Mobilität und Boden-Pflanze-Transfer von Schwermetallen auf/in uranhaltigen Haltenböden. *Dissertation*, Friedrich-Schiller-Universität Jena.
- Schreiber U (2003) In Vivo Chlorophyll Fluorescence: Assessment and Analysis of Photosynthesis Function. In *Physiological Plant Ecology* [W Larcher, Hrsg.]. Berlin: Springer-Verlag, 73-77.

- Schreiber U, Bilger W, Homann H & Neubauer C (1998) Chlorophyllfluorescence as a diagnostic tool: Basics and some aspects of practical relevance. In *Photosynthesis: A comprehensive treatise* [AS Raghavendra, Hrsg.]. Cambridge: Cambridge-University-Press, 320-336.
- Schubert S (1990) Die Bedeutung der Protonenabgabe von Pflanzenwurzeln für die Nährstoffaufnahme. *Kali-Briefe (Büntehof)* **20**, 369-379.
- Serrano R, Mulet JM, Rios G, Marquez JA, de Larrinoa IF, Leube MP, Mendizabal I, Pascual-Ahuir A, Proft M, Ros R & Montesino C (1999) A glimpse of the mechanism of ion homeostasis during salt stress. *Journal of Experimental Botany* **50**, 1023-1036.
- Sheng L, Zheng X, Tong H, Liu S, Du J & Liu Q (2004) Purification and characterization of cytosolic isoenzyme III of Cu,Zn-superoxide dismutase from tobacco leaves. *Plant Science* **167**, 1235-1241.
- Siedlecka A & Krupa Z (1999) Cd/Fe interactions in higher plants - its consequences for the photosynthetic apparatus. *Photosynthetica* **36**, 321-331.
- Singh B, Natesan SKA, Singh BK & Usha K (2005) Improving zinc efficiency of cereals under zinc deficiency. *Current Science* **88**, 36-44.
- Soussi M, Ocana A & Lluch C (1998) Effects of salt stress on growth, photosynthesis and nitrogen fixation in chick-pea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Experimental Botany* **49**, 1329-1337.
- Strasser RJ, Srivatava A & Tsimilli-Michael M (1999) Screening the Vitality and photosynthetic activity of plants by fluorescence transient. In *Crop Improvement for Food Security* [RK Behl, MS Punia and BPS Lather, Hrsg.]. Hisar (India): SSARM, 72-115.
- Strasser RJ, Srivatava A & Tsimilli-Michael M (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In *Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation* [M Yunus, U Pathre and P Mohanty, Hrsg.]. UK: Taylor and Francis, 445-483.
- Swaraj K, Bishnoi S, Dudeja SS, Vashisht RD & Sheokand S (2007) Root ROS as Determinant of Plant Response to P Deficiency in Pigeonpea. *International Seminar on Food, Security, Biomass Energy and Livelihood Strategies*, 45.
- Tartachnyk I & Rademacher I (2003) Estimation of nitrogen deficiency of sugar beet and wheat using parameters of laser induced and pulse amplitude modulated chlorophyll fluorescence. *Journal of Applied Botany* **77**, 61-67.
- Thun R, Herrmann R, Knickmann E & Hoffmann G (1991) *Die Untersuchung von Böden*, 4. Aufl., Darmstadt: VDLUFA-Verlag, Losebl.-Ausg.
- Townsend CR, Harper JL & Begon ME (2003) *Ökologie*, Berlin: Springer-Verlag, 647 S.
- Treseder KK & Allen MF (2002) Direct nitrogen and phosphorus limitation of arbuscular mycorrhizial fungi: a model and field test. *New Phytologist* **155**, 507-515.
- Usuda H & Shimogawara K (1992) Phosphate Deficiency in Maize. III. Changes in Enzyme Activitys during the Course of Phosphate Deprivation. *Plant Physiology* **99**, 1680-1685.

- Van Steveninck RFM, Van Steveninck ME, Fernando DR, Horst WJ & Marschner H (1987) Deposition of zinc phytate in globular bodies in roots of *Deschampsia caespitosa* ecotypes; a detoxification mechanism? *Journal of Plant Physiology* **131**, 247-257.
- von Wiren N, Marschner H & Römheld V (1996) Roots of Iron-Efficient Maize also Absorb Phytosiderophore-Chelated Zinc. *Plant Physiology* **111**, 1119-1125.
- Walker DA (1997) 'Tell me where all past years are'. *Photosynthesis Research* **51**, 1-26.
- Wanner LA & Junttila O (1999) Cold-Induced Freezing Tolerance in Arabidopsis. *Plant Physiology* **120**, 391-399.
- Weiher E (2003) Species richness along multiple gradients: testing a general multivariate model in oak savannas. *Oikos* **101**, 311-316.
- Weiher E, Forbes S, Schauwecker T & Grace JB (2004) Multivariate control of plant species richness and community biomass in blackland prairie. *Oikos* **106**, 151-157.
- Weiher E, van der Werf A, Thompson K, Roderick M, Garnier E & Eriksson O (1999) Challenging Theophrastus: A common core list of plant traits for functional ecology. *Journal of Vegetation Science* **10**, 609-620.
- Weisiger RA & Fridovich I (1973) Superoxide Dismutase: Organelle Specificity. *Journal of Biological Chemistry* **248**, 3582-3592.
- Wejnar R (1989) Untersuchungen über Photosynthese-Pigmente bei Lemnaceen. VII. Einfluss von Ethanolamin auf Pigmentbildung und Wachstum bei deetiolierenden Pflanzen von *Lemna gibba* L. *Zeitschrift für Angewandte Botanik* **63**, 341-346.
- Wissuwa M, Gamat G & Ismail AM (2005) Is root growth under phosphorus deficiency affected by source or sink limitation? *Journal of Experimental Botany* **56**, 1943-1950.
- Wittenmayer L & Merbach W (2005) Plant response to drought and phosphorus deficiency: contribution of phytohormones in root-related processes. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **168**, 531-540.
- Woodrow IE & Rowan KS (1979) Change of Flux of Orthophosphate Between Cellular Compartments in Ripening Tomato Fruits in Relation to Climacteric Rise in Respiration. *Australian Journal of Plant Physiology* **6**, 39-46.
- Yates CJ & Hobbs RJ (1997) Woodland Restoration in the Western Australian Wheatbelt: A conceptual Framework Using a State and Transition Model. *Restoration Ecology* **5**, 28-35.
- Yates CJ, Norton DA & Hobbs RJ (2000) Grazing effects on plant cover, soil and microclimate in fragmented woodlands in south-western Australia: implications for restoration. *Australian Ecology* **25**, 36-47.
- Yu Q, Worth C & Rengel Z (1999) Using capillary electrophoresis to measure Cu/Zn superoxide dismutase concentration in leaves of wheat genotypes differing in tolerance to zinc deficiency. *Plant Science* **143**, 231-239.

- Zirr K (2008) Physiologische und biochemische Charakterisierung von Stress- und Adaptationszuständen auf Gräser unter dem Einfluss geobiogener Interaktionen. *Dissertation*, Friedrich-Schiller-Universität Jena.
- Zorn W & Krause O (1999) Untersuchungen zur Charakterisierung des pflanzenverfügbaren Phosphates in Thüringer Carbonatböden. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **162**, 463-469.
- Zorn W, Marks G, Heß H & Bergmann W (2007) *Handbuch zur visuellen Diagnose von Ernährungsstörungen bei Kulturpflanzen*, Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, 371 S.

Anhang

Anlage 1:	Korngrößenzusammensetzung des Bodens und Bodenarten an den Hangabschnitten am Transekt im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“.....	130
Anlage 2:	Faktorenanalyse – Faktorladungen von Bodenparametern aus dem Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ und der Referenzstelle (Rotierende Komponentenmatrix nach Varimax mit Kaisernormalisierung).....	130
Anlage 3:	Bodenanalysen Teil 1: pH-Wert, Max. WHK, Al, Ca, Cd, Fe und K entlang des Transektes im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“	131
Anlage 4:	Bodenanalysen Teil 2: Mg, Mn, Na, P, Zn, N_{\min} und <i>Olsen P</i> entlang des Transektes im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“.....	132
Anlage 5:	Spearman's Korrelationskoeffizienten der Bodenparameter entlang des Transektes im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“.....	133
Anlage 6:	<i>Gefäßversuch A</i> – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PFTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 1: Ca und Fe.....	134
Anlage 7:	<i>Gefäßversuch A</i> – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PFTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 2: K und Mg	135
Anlage 8:	<i>Gefäßversuch A</i> – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PFTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 3: Mn und Na.....	136
Anlage 9:	<i>Gefäßversuch A</i> – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PFTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 4: P und Zn	137
Anlage 10:	<i>Gefäßversuch A</i> – Spearman's Korrelationskoeffizienten untersuchter Elemente in den drei untersuchten Pflanzenspezies	138
Anlage 11:	<i>Gefäßversuch A</i> – Biomasse und Prolinkonzentration von/in Spross und Wurzel der untersuchten Pflanzenspezies	139
Anlage 12:	<i>Gefäßversuch A</i> – pH-Wert im Gefäßboden und effektive und maximale Quantenausbeute (Chlorophyll-Fluoreszenz) der untersuchten Pflanzenspezies	140
Anlage 13:	<i>Gefäßversuch A</i> – Lösliches Protein nach Bradford.....	141
Anlage 14:	<i>Gefäßversuch A</i> – Quantifizierung der Aktivitäten der Superoxid-Dismutase-Isoenzyme mittels densitometrischer Auswertung der Gele	142
Anlage 15:	<i>Gefäßversuch B</i> – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PFTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 1: Ca, Cd, Fe und K.....	143
Anlage 16:	<i>Gefäßversuch B</i> – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PFTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 2: Mg, Mn, Na, P und Zn.....	144
Anlage 17:	<i>Gefäßversuch B</i> – Biomasse und Prolinkonzentration von/in Spross und Wurzel, pH-Wert im Gefäßboden sowie effektive und maximale Quantenausbeute (Chlorophyll-Fluoreszenz) der untersuchten Pflanzenspezies	145

Anlage 18:	<i>Gefäßversuch B</i> – Lösliches Protein nach Bradford und Quantifizierung der Aktivitäten der Superoxid-Dismutase-Isoenzyme mittels densitometrischer Auswertung der Gele	146
Anlage 19:	<i>Versuch C</i> – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PfTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 1: Ca, Cd, Fe und K.....	147
Anlage 20:	<i>Versuch C</i> – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PfTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 2: Mg, Mn, Na, P und Zn	148
Anlage 21:	<i>Versuch C</i> – Biomasse und Prolinkonzentration von/in Spross und Wurzel, pH-Wert im durchwurzelten Boden sowie effektive und maximale Quantenausbeute (Chlorophyll-Fluoreszenz) der untersuchten Pflanzenspezies.....	149
Anlage 22:	<i>Versuch C</i> – Lösliches Protein nach Bradford und Quantifizierung der Aktivitäten der Superoxid-Dismutase-Isoenzyme mittels densitometrischer Auswertung der Gele.....	150

Anlage 1: Korngrößenzusammensetzung des Bodens und Bodenarten an den Hangabschnitten am Transekt im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“

Hangabschnitt	Sand %	Schluff %	Ton %	Bodenart
Unterhang	58	34	8	Su3
Mittelhang	14	60	26	Lu
Oberhang	15	59	26	Lu

nach Metzner *et al.* (1997)

Anlage 2: Faktorenanalyse – Faktorladungen von Bodenparametern aus dem Untersuchungsgebiet „Steudnitz“ und der Referenzstelle (Rotierende Komponentenmatrix nach Varimax mit Kaisernormalisierung)

Bodenparameter	Komponente 1	Komponente 2	Komponente 3
pH-Wert	0,838	0,030	-0,012
Al	-0,954	-0,148	0,110
Ca	0,948	0,290	-0,045
Cd	0,603	0,763	-0,082
Fe	-0,876	-0,424	-0,036
K	-0,361	0,133	0,868
Mg	-0,249	-0,953	0,107
Mn	-0,889	-0,440	-0,001
Na	0,815	0,519	-0,223
P	0,722	0,676	-0,099
Zn	0,116	0,852	-0,346
N _{min}	0,205	-0,358	0,832
Olsen P	0,333	0,837	0,228
Erklärungswert an Gesamtvarianz	45,9 %	32,8 %	13,1 %

Basierend auf den Daten aus Anlage 3 und Anlage 4

Anlage 3: Bodenanalysen Teil 1: pH-Wert, Max. WHK, Al, Ca, Cd, Fe und K entlang des Transektes im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“

Mess- punkt	pH-Wert	Max. WHK [%]	Al [mg kg ⁻¹ BoTM]	Ca [mg kg ⁻¹ BoTM]	Cd [mg kg ⁻¹ BoTM]	Fe [mg kg ⁻¹ BoTM]	K [mg kg ⁻¹ BoTM]
P1	7,38 ± 0,08	69 ± 4	7789 ± 202	275128 ± 8803	15,6 ± 0,9	5580 ± 214	2279 ± 146
P2	7,49 ± 0,09	72 ± 6	9345 ± 582	267316 ± 6649	14,4 ± 0,7	6200 ± 245	3532 ± 472
P3	7,52 ± 0,05	71 ± 4	10445 ± 1096	263801 ± 10275	13,9 ± 1,1	6856 ± 586	4153 ± 643
P4	7,56 ± 0,12	79 ± 4	12151 ± 1660	229992 ± 8817	13,2 ± 1,8	7721 ± 1074	5527 ± 896
P5	7,50 ± 0,08	76 ± 8	12652 ± 442	207352 ± 7228	12,4 ± 0,5	8112 ± 453	5867 ± 252
P6	7,42 ± 0,03	99 ± 3	15074 ± 1895	218970 ± 17010	12,6 ± 2,0	9421 ± 1107	5812 ± 1032
P7	7,33 ± 0,04	119 ± 14	11369 ± 552	231908 ± 4617	12,2 ± 0,9	7253 ± 409	4085 ± 278
P8	7,33 ± 0,06	97 ± 4	18116 ± 2616	181628 ± 27257	12,2 ± 1,5	11952 ± 2211	6690 ± 667
P9	7,22 ± 0,03	119 ± 6	17349 ± 1895	164682 ± 27543	12,6 ± 1,3	11452 ± 1624	6220 ± 541
P10	7,13 ± 0,04	115 ± 9	16837 ± 786	153553 ± 28444	12,4 ± 2,3	11076 ± 1140	6025 ± 209
P11	7,05 ± 0,05	124 ± 13	17599 ± 918	147204 ± 14037	9,7 ± 2,4	11686 ± 991	5682 ± 229
P12	7,00 ± 0,09	101 ± 2	23069 ± 1360	66690 ± 12193	7,5 ± 0,9	19153 ± 1796	4744 ± 168
P13	7,14 ± 0,04	92 ± 10	24527 ± 768	51303 ± 3385	7,8 ± 0,5	21539 ± 1098	4826 ± 174
P14	7,23 ± 0,06	89 ± 26	25221 ± 1387	59844 ± 3251	8,1 ± 0,8	22018 ± 1553	5325 ± 232
P15	7,27 ± 0,03	88 ± 12	23669 ± 1199	70816 ± 3043	7,7 ± 0,6	20798 ± 1214	4816 ± 189
RfPo	7,29 ± 0,07	84 ± 14	13113 ± 1128	169184 ± 19035	4,1 ± 2,0	14295 ± 1125	4673 ± 466
BVB	7,41 ± 0,05	61 ± 9	13376 ± 408	248073 ± 13568	12,6 ± 3,5	8929 ± 1036	6426 ± 276
BVC	7,22 ± 0,03	132 ± -	14494 ± 343	192547 ± 3201	12,2 ± 0,3	5645 ± 172	5588 ± 1

Mittelwerte ± Standardabweichung (für pH-Wert n=6; Max. WHK n=2; Al, Ca, Cd, Fe, K n=8); RfPo ... Referenzstelle in Porstendorf, BVB ... Boden des *Gefäßversuches B*, BVC ... Boden des *Versuches C* im Freiland

Anlage 4: Bodenanalysen Teil 2: Mg, Mn, Na, P, Zn, N_{min} und *Olsen P* entlang des Transektes im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“

Mess- punkt	Mg [mg kg ⁻¹ BoTM]	Mn [mg kg ⁻¹ BoTM]	Na [mg kg ⁻¹ BoTM]	P [mg kg ⁻¹ BoTM]	Zn [mg kg ⁻¹ BoTM]	N _{min} [mg kg ⁻¹ BoTM]	<i>Olsen P</i> [mg kg ⁻¹ BoTM]
P1	2281 ± 89	259 ± 11	16495 ± 582	119415 ± 3411	89 ± 7	0,81 ± 0,67	217 ± 28
P2	2681 ± 163	270 ± 11	15081 ± 606	111484 ± 4203	82 ± 3	1,24 ± 0,62	212 ± 42
P3	2965 ± 316	280 ± 17	14968 ± 1262	108152 ± 5450	80 ± 4	0,85 ± 0,32	178 ± 21
P4	3016 ± 321	287 ± 24	11714 ± 920	87431 ± 7595	78 ± 3	0,94 ± 0,41	192 ± 20
P5	2848 ± 138	282 ± 8	9978 ± 1040	78501 ± 5329	71 ± 3	1,61 ± 0,45	219 ± 39
P6	3131 ± 225	322 ± 14	10987 ± 276	95604 ± 7648	72 ± 7	1,69 ± 0,37	298 ± 45
P7	2537 ± 131	311 ± 15	10574 ± 237	104055 ± 2185	73 ± 3	0,98 ± 0,64	294 ± 34
P8	3663 ± 475	389 ± 30	7628 ± 1543	76088 ± 13259	73 ± 3	1,76 ± 0,32	223 ± 33
P9	3339 ± 304	356 ± 27	5956 ± 1265	71101 ± 13845	80 ± 5	2,05 ± 0,73	225 ± 39
P10	3174 ± 175	425 ± 36	5971 ± 1297	66592 ± 13654	80 ± 7	1,57 ± 0,35	238 ± 38
P11	3226 ± 142	418 ± 21	4165 ± 265	64180 ± 7348	81 ± 6	1,23 ± 0,70	204 ± 15
P12	4586 ± 288	525 ± 48	1451 ± 378	26466 ± 4186	73 ± 2	0,58 ± 0,45	156 ± 23
P13	5498 ± 171	546 ± 26	809 ± 62	15394 ± 1431	70 ± 3	0,64 ± 0,64	113 ± 11
P14	6105 ± 259	537 ± 20	653 ± 71	13702 ± 1047	73 ± 2	1,55 ± 1,71	122 ± 9
P15	6121 ± 242	530 ± 31	684 ± 96	12554 ± 888	70 ± 5	1,09 ± 0,74	112 ± 12
RfPo	11147 ± 958	463 ± 33	147 ± 13	899 ± 104	50 ± 4	2,39 ± 1,05	36 ± 10
BVB	7038 ± 1393	200 ± 16	5717 ± 1782	46712 ± 17810	69 ± 13	1,09 ± 0,69	174 ± 7
BVC	2784 ± 70	324 ± 6	7085 ± 57	85319 ± 1567	73 ± 1	5,82 ± 0,35	159 ± 10

Mittelwerte ± Standardabweichung (für Mg, Mn, Na, P, Zn n=8; N_{min}, *Olsen P* n=6); RfPo ... Referenzstelle in Porstendorf, BVB ... Boden des *Gefäßversuches B*, BVC ... Boden des *Versuches C* im Freiland

Anlage 5: Spearmans Korrelationskoeffizienten der Bodenparameter entlang des Transektes im Untersuchungsgebiet „Steudnitz“

	pH	Al	Ca	Cd	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Zn	N _{min}	<i>Olsen P</i>
pH	1	-0,674**	0,730**	0,539**	-0,679**	-0,188	-0,484**	-0,760**	0,732**	0,603**	0,096	0,077	0,227*
Al	-0,674**	1	-0,960**	-0,825**	0,997**	0,441**	0,944**	0,963**	-0,947**	-0,943**	-0,492**	0,018	-0,539**
Ca	0,730**	-0,960**	1	0,858**	-0,960**	-0,411**	-0,864**	-0,933**	0,952**	0,962**	0,551**	0,058	0,523**
Cd	0,539**	-0,825**	0,858**	1	-0,823**	-0,312**	-0,785**	-0,804**	0,829**	0,861**	0,695**	0,176	0,479**
Fe	-0,679**	0,997**	-0,960**	-0,823**	1	0,434**	0,945**	0,967**	-0,953**	-0,945**	-0,483**	0,027	-0,556**
K	-0,188	0,441**	-0,411**	-0,312**	0,434**	1	0,410**	0,323**	-0,359**	-0,442**	-0,313**	0,380**	0,126
Mg	-0,484**	0,944**	-0,864**	-0,785**	0,945**	0,410**	1	0,894**	-0,874**	-0,902**	-0,458**	-0,001	-0,634**
Mn	-0,760**	0,963**	-0,933**	-0,804**	0,967**	0,323**	0,894**	1	-0,947**	-0,895**	-0,417**	-0,010	-0,525**
Na	0,732**	-0,947**	0,952**	0,829**	-0,953**	-0,359**	-0,874**	-0,947**	1	0,954**	0,472**	0,013	0,533**
P	0,603**	-0,943**	0,962**	0,861**	-0,945**	-0,442**	-0,902**	-0,895**	0,954**	1	0,559**	0,058	0,568**
Zn	0,096	-0,492**	0,551**	0,695**	-0,483**	-0,313**	-0,458**	-0,417**	0,472**	0,559**	1	0,122	0,187
N _{min}	0,077	0,018	0,058	0,176	0,027	0,380**	-0,001	-0,010	0,013	0,058	0,122	1	0,319**
<i>Olsen P</i>	0,227*	-0,539**	0,523**	0,479**	-0,556**	0,126	-0,634**	-0,525**	0,533**	0,568**	0,187	0,319**	1

für Al, Ca, Cd, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Zn n=120; pH, N_{min}, *Olsen P* n=90

** Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

* Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

Anlage 6: Gefäßversuch A – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PfTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 1: Ca und Fe

Spezies	mg P kg^{-1} BoTM	Ca				Fe			
		ohne CaCO_3		6500 mg CaCO_3		ohne CaCO_3		6500 mg CaCO_3	
		Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
<i>Arrhenatherum elatius</i>	25	2216 ^c \pm 783	1322 ^a \pm 250	3569 ^d \pm 164	7737 ^{ab} \pm 1339	430 ^{ab} \pm 208	3861 ^{ab} \pm 1687	212 \pm 94	4352 ^c \pm 1736
	50	1744 ^{bc} \pm 604	1315 ^a \pm 200	3339 ^c \pm 145	9518 ^{ab} \pm 1295	290 ^{ab} \pm 134	2172 ^a \pm 950	191 \pm 79	4557 ^c \pm 1697
	100	1670 ^{bc} \pm 302	1424 ^a \pm 174	3260 ^c \pm 123	10188 ^{ab} \pm 2216	484 ^{ab} \pm 375	2602 ^{ab} \pm 810	280 \pm 230	2994 ^{abc} \pm 870
	140	2025 ^c \pm 312	1307 ^a \pm 287	3242 ^c \pm 135	11675 ^b \pm 4349	525 ^{ab} \pm 387	4948 ^b \pm 2319	342 \pm 271	4008 ^{bc} \pm 726
	250	1564 ^{bc} \pm 129	1352 ^a \pm 114	2347 ^b \pm 207	11144 ^{ab} \pm 2909	473 ^{ab} \pm 261	2668 ^{ab} \pm 1636	205 \pm 145	2276 ^{ab} \pm 588
	500	1103 ^b \pm 106	2231 ^b \pm 217	1130 ^a \pm 181	6679 ^a \pm 1080	718 ^b \pm 374	2035 ^a \pm 473	406 \pm 197	1733 ^a \pm 517
	1000	388 ^a \pm 44	2213 ^b \pm 102	n.b. \pm -	n.b. \pm -	129 ^a \pm 60	1426 ^a \pm 161	n.b. \pm -	n.b. \pm -
<i>Elymus repens</i>	25	2017 ^b \pm 484	2098 ^a \pm 342	4029 ^c \pm 563	6429 \pm 639	550 \pm 223	2432 ^b \pm 319	225 \pm 91	4377 ^b \pm 2079
	50	2360 ^b \pm 517	2238 ^{ab} \pm 588	3963 ^c \pm 520	6643 \pm 309	520 \pm 219	2738 ^b \pm 655	209 \pm 100	2217 ^a \pm 924
	100	2789 ^c \pm 325	2573 ^{abc} \pm 418	3887 ^c \pm 363	6743 \pm 908	508 \pm 240	2133 ^{ab} \pm 588	201 \pm 100	1857 ^a \pm 302
	140	2913 ^c \pm 391	2794 ^{bc} \pm 398	4029 ^c \pm 73	6399 \pm 1005	434 \pm 135	1936 ^{ab} \pm 767	218 \pm 100	2078 ^a \pm 507
	250	2921 ^c \pm 477	2969 ^{cd} \pm 576	2895 ^b \pm 301	6838 \pm 555	665 \pm 442	2628 ^b \pm 876	262 \pm 180	2364 ^a \pm 796
	500	1483 ^a \pm 218	3389 ^d \pm 311	1359 ^a \pm 142	6940 \pm 1441	497 \pm 226	2002 ^{ab} \pm 634	226 \pm 95	1667 ^a \pm 501
	1000	1115 ^a \pm 235	3438 ^d \pm 402	n.b. \pm -	n.b. \pm -	704 \pm 292	1288 ^a \pm 176	n.b. \pm -	n.b. \pm -
<i>Avena sativa</i>	25	1653 ^a \pm 317	1801 ^a \pm 303	3597 ^c \pm 504	8499 \pm 2072	312 ^a \pm 142	4883 ^b \pm 1255	111 \pm 90	7051 ^b \pm 2341
	50	1713 ^a \pm 241	2022 ^a \pm 536	3372 ^c \pm 322	9517 \pm 2320	276 ^a \pm 114	4776 ^b \pm 1288	71 \pm 13	6338 ^b \pm 1650
	100	2257 ^b \pm 419	2478 ^{ab} \pm 410	3373 ^c \pm 335	8526 \pm 2926	261 ^a \pm 118	5047 ^{ab} \pm 2959	265 \pm 359	4292 ^{ab} \pm 2685
	140	2457 ^b \pm 598	2454 ^{ab} \pm 803	3281 ^c \pm 196	15649 \pm 7171	169 ^a \pm 58	3927 ^{ab} \pm 1923	96 \pm 28	5707 ^b \pm 1795
	250	1730 ^a \pm 364	2725 ^{ab} \pm 642	2260 ^b \pm 186	12122 \pm 2936	230 ^a \pm 108	2866 ^{ab} \pm 909	137 \pm 98	2333 ^a \pm 1660
	500	1222 ^a \pm 297	3274 ^b \pm 868	1206 ^a \pm 224	7129 \pm 4184	489 ^b \pm 126	1871 ^a \pm 596	235 \pm 157	2110 ^a \pm 1199
	1000	n.b. \pm -	n.b. \pm -	n.b. \pm -	n.b. \pm -	n.b. \pm -	n.b. \pm -	n.b. \pm -	n.b. \pm -

Mittelwert \pm Standardabweichung (für P-Dosen 25-500 mg ohne CaCO_3 n=7 sowie mit CaCO_3 n=5, P-Dosis 1000 mg $0 \leq n \leq 7$); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte ($a < b < c < d$; $P < 0,05$) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test); Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; CaCO_3 -Zusatz entspricht 6500 mg $\text{CaCO}_3 \text{ kg}^{-1}$ BoTM; n.b. ... nicht bestimmt

Anlage 7: Gefäßversuch A – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PfTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 2: K und Mg

Spezies	mg P kg^{-1} BoTM	K				Mg			
		ohne CaCO_3		6500 mg CaCO_3		ohne CaCO_3		6500 mg CaCO_3	
		Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
<i>Arrhenatherum elatius</i>	25	32446 ^a ± 7223	8995 ^a ± 1310	35365 ^a ± 4615	10188 ^a ± 2904	5652 ^b ± 1970	1438 ^a ± 355	5291 ^b ± 580	2602 ^{ab} ± 496
	50	31109 ^a ± 8824	10210 ^a ± 1708	36098 ^a ± 2826	12349 ^a ± 2671	4769 ^b ± 1756	1529 ^a ± 270	5230 ^b ± 721	2944 ^b ± 329
	100	29900 ^a ± 8250	10291 ^a ± 3571	37643 ^a ± 4423	11691 ^a ± 3556	4258 ^b ± 943	1542 ^a ± 186	5299 ^b ± 827	2547 ^{ab} ± 547
	140	24673 ^a ± 9768	7418 ^a ± 4939	34365 ^a ± 3082	9223 ^a ± 3899	5080 ^b ± 1728	1710 ^a ± 405	5381 ^b ± 875	2257 ^{ab} ± 629
	250	38193 ^a ± 4447	15740 ^b ± 2508	46229 ^b ± 3201	18282 ^b ± 2868	3631 ^b ± 663	1550 ^a ± 248	4786 ^b ± 825	1922 ^a ± 508
	500	52394 ^b ± 12857	24765 ^c ± 3666	66001 ^c ± 7446	28099 ^c ± 2827	3877 ^b ± 759	2583 ^b ± 884	3519 ^a ± 229	2939 ^b ± 173
	1000	63058 ^b ± 73	24133 ^c ± 1273	n.b. ± -	n.b. ± -	1163 ^a ± 136	1634 ^a ± 333	n.b. ± -	n.b. ± -
<i>Elymus repens</i>	25	45112 ^{ab} ± 13741	11200 ^a ± 3175	38154 ^a ± 4111	19284 ^a ± 2692	3159 ^b ± 710	1330 ^a ± 121	4180 ^{ab} ± 903	2624 ^b ± 414
	50	48500 ^{ab} ± 14318	13537 ^{ab} ± 2839	40705 ^a ± 3577	21777 ^a ± 3365	3518 ^{bc} ± 660	1411 ^a ± 210	4394 ^{ab} ± 864	2407 ^{ab} ± 303
	100	48826 ^{ab} ± 11130	15116 ^{ab} ± 1327	39511 ^a ± 5635	18309 ^a ± 4593	3697 ^{bc} ± 424	1517 ^{ab} ± 154	4629 ^{ab} ± 679	2712 ^b ± 460
	140	37869 ^a ± 3083	15824 ^b ± 3925	38979 ^a ± 4296	16801 ^a ± 2793	4218 ^c ± 1027	1902 ^c ± 199	5024 ^b ± 586	2364 ^{ab} ± 277
	250	54298 ^{ab} ± 15577	20843 ^c ± 3630	42253 ^a ± 2471	17777 ^a ± 2042	3430 ^{bc} ± 528	1694 ^b ± 187	4083 ^{ab} ± 480	1840 ^a ± 260
	500	50703 ^{ab} ± 2151	34399 ^d ± 3699	54946 ^b ± 5484	29239 ^b ± 3782	2833 ^b ± 266	2278 ^d ± 196	3413 ^a ± 545	2560 ^b ± 597
	1000	60383 ^b ± 4011	32589 ^d ± 2391	n.b. ± -	n.b. ± -	1774 ^a ± 138	2445 ^d ± 255	n.b. ± -	n.b. ± -
<i>Avena sativa</i>	25	35349 ^a ± 8126	9511 ^a ± 1867	29749 ^a ± 9703	9074 ± 3848	3449 ^{ab} ± 780	1411 ^a ± 121	3950 ^c ± 137	4342 ± 1481
	50	36268 ^a ± 7960	11912 ^a ± 3187	27801 ^a ± 4810	8772 ± 1868	3447 ^{ab} ± 922	1797 ^b ± 209	4108 ^c ± 187	4121 ± 1393
	100	34207 ^a ± 4126	9388 ^a ± 1785	29669 ^a ± 6737	10740 ± 4363	4069 ^{ab} ± 1018	2763 ^d ± 391	3929 ^c ± 302	3893 ± 1433
	140	33303 ^a ± 5649	8525 ^a ± 1987	27782 ^a ± 4319	8799 ± 1690	4357 ^b ± 730	2871 ^d ± 523	4181 ^c ± 223	4222 ± 1204
	250	44338 ^b ± 5087	18020 ^b ± 3409	40660 ^b ± 3832	19257 ± 5402	3025 ^a ± 679	2182 ^c ± 232	3392 ^b ± 281	2345 ± 534
	500	73208 ^c ± 8889	17282 ^b ± 5299	77531 ^c ± 5243	14090 ± 8010	3015 ^a ± 268	3853 ^e ± 245	1792 ^a ± 336	2232 ± 614
	1000	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -

Mittelwert ± Standardabweichung (für P-Dosen 25-500 mg ohne CaCO_3 n=7 sowie mit CaCO_3 n=5, P-Dosis 1000 mg $0 \leq n \leq 7$); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte ($a < b < c < d < e$; $P < 0,05$) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test); Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; CaCO_3 -Zusatz entspricht 6500 mg $\text{CaCO}_3 \text{ kg}^{-1}$ BoTM; n.b. ... nicht bestimmt

Anlage 8: Gefäßversuch A – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PfTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 3: Mn und Na

Spezies	mg P kg^{-1} BoTM	Mn				Na			
		ohne CaCO_3		6500 mg CaCO_3		ohne CaCO_3		6500 mg CaCO_3	
		Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
<i>Arrhenatherum elatius</i>	25	98 ^b ± 31	81 ^{bc} ± 16	93 ^{bc} ± 9	90 ^c ± 14	89 ^a ± 25	193 ^{ab} ± 93	101 ^a ± 41	349 ^b ± 97
	50	100 ^b ± 31	85 ^{bc} ± 10	99 ^{bc} ± 5	101 ^c ± 5	72 ^a ± 12	273 ^{ab} ± 123	73 ^a ± 28	392 ^b ± 35
	100	120 ^b ± 34	112 ^{cd} ± 26	107 ^b ± 15	89 ^c ± 13	57 ^a ± 26	310 ^b ± 93	90 ^a ± 21	342 ^b ± 63
	140	136 ^b ± 30	125 ^d ± 31	97 ^{bc} ± 15	86 ^c ± 24	67 ^a ± 29	319 ^b ± 148	68 ^a ± 17	332 ^b ± 86
	250	144 ^b ± 35	126 ^d ± 34	77 ^b ± 15	65 ^b ± 4	60 ^a ± 24	116 ^a ± 55	76 ^a ± 17	129 ^a ± 17
	500	109 ^b ± 18	71 ^b ± 11	47 ^a ± 15	39 ^a ± 2	109 ^a ± 68	115 ^a ± 17	153 ^b ± 52	326 ^b ± 32
	1000	24 ^a ± 0	40 ^a ± 0	n.b. ± -	n.b. ± -	222 ^b ± 1	178 ^{ab} ± 13	n.b. ± -	n.b. ± -
<i>Elymus repens</i>	25	69 ^a ± 13	60 ^a ± 6	87 ± 17	97 ^c ± 17	160 ± 53	271 ^a ± 62	127 ± 58	379 ^{ab} ± 197
	50	84 ^{ab} ± 18	90 ^b ± 18	88 ± 12	94 ^c ± 12	140 ± 56	308 ^a ± 87	107 ± 31	290 ^{ab} ± 109
	100	107 ^b ± 18	117 ^b ± 18	89 ± 19	76 ^b ± 11	143 ± 58	364 ^a ± 155	137 ± 61	476 ^b ± 225
	140	115 ^b ± 16	149 ^c ± 33	88 ± 8	63 ^{ab} ± 9	120 ± 23	502 ^b ± 219	123 ± 50	421 ^{ab} ± 118
	250	168 ^d ± 38	165 ^c ± 27	71 ± 5	63 ^{ab} ± 14	150 ± 84	234 ^a ± 86	134 ± 57	193 ^a ± 22
	500	144 ^c ± 27	115 ^b ± 30	73 ± 19	48 ^a ± 11	122 ± 34	219 ^a ± 56	141 ± 20	192 ^a ± 32
	1000	112 ^b ± 5	89 ^b ± 18	n.b. ± -	n.b. ± -	153 ± 68	188 ^a ± 65	n.b. ± -	n.b. ± -
<i>Avena sativa</i>	25	85 ^a ± 20	65 ^b ± 18	73 ^b ± 21	84 ± 14	97 ^a ± 22	341 ^b ± 58	72 ^a ± 36	409 ± 122
	50	95 ^a ± 26	76 ^{bc} ± 12	67 ^b ± 10	75 ± 13	94 ^a ± 36	434 ^{bc} ± 153	54 ^a ± 28	486 ± 151
	100	133 ^b ± 32	108 ^d ± 27	75 ^b ± 13	75 ± 18	91 ^a ± 20	522 ^d ± 89	65 ^a ± 27	495 ± 157
	140	156 ^b ± 29	106 ^d ± 15	72 ^b ± 13	78 ± 11	95 ^a ± 36	488 ^d ± 152	61 ^a ± 28	581 ± 121
	250	151 ^b ± 31	93 ^{cd} ± 14	65 ^b ± 15	64 ± 22	100 ^a ± 30	175 ^a ± 58	76 ^a ± 23	303 ± 119
	500	78 ^a ± 12	43 ^a ± 9	38 ^a ± 8	49 ± 24	199 ^b ± 41	187 ^a ± 61	208 ^b ± 33	296 ± 96
	1000	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -

Mittelwert ± Standardabweichung (für P-Dosen 25-500 mg ohne CaCO_3 n=7 sowie mit CaCO_3 n=5, P-Dosis 1000 mg $0 \leq n \leq 7$); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte ($a < b < c < d$; $P < 0,05$) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test); Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; CaCO_3 -Zusatz entspricht 6500 mg $\text{CaCO}_3 \text{ kg}^{-1}$ BoTM; n.b. ... nicht bestimmt

Anlage 9: Gefäßversuch A – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PfTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 4: P und Zn

Spezies	mg P kg^{-1} BoTM	P						Zn					
		ohne CaCO_3			6500 mg CaCO_3			ohne CaCO_3			6500 mg CaCO_3		
		Spross	Wurzel		Spross	Wurzel		Spross	Wurzel		Spross	Wurzel	
<i>Arrhenatherum elatius</i>	25	3391 ^a ± 1176	2758 ^a ± 942		3579 ^a ± 351	1852 ^a ± 450		39 ± 22	56 ^{bc} ± 18		40 ± 6	57 ^{ab} ± 17	
	50	4952 ^{ab} ± 1537	3530 ^a ± 1105		5497 ^b ± 442	3314 ^b ± 556		31 ± 17	65 ^{bc} ± 17		37 ± 8	70 ^b ± 18	
	100	6597 ^{bc} ± 1472	4620 ^a ± 1703		6668 ^{bc} ± 782	4088 ^b ± 1128		32 ± 15	75 ^c ± 21		40 ± 10	63 ^b ± 15	
	140	6916 ^{bc} ± 1661	4423 ^a ± 1928		6659 ^{bc} ± 697	3596 ^b ± 732		31 ± 10	70 ^c ± 24		33 ± 7	53 ^{ab} ± 23	
	250	8547 ^{cd} ± 705	8324 ^b ± 1067		6607 ^{bc} ± 1151	5313 ^c ± 1305		32 ± 8	60 ^{bc} ± 10		34 ± 7	51 ^{ab} ± 7	
	500	9322 ^d ± 2293	8844 ^b ± 885		6897 ^c ± 265	6318 ^c ± 432		46 ± 8	38 ^b ± 12		37 ± 18	30 ^a ± 12	
	1000	15917 ^e ± 1838	11141 ^c ± 1356		n.b. ± -	n.b. ± -		24 ± 0	9 ^a ± 2		n.b. ± -	n.b. ± -	
<i>Elymus repens</i>	25	4596 ^a ± 450	3995 ^a ± 352		3622 ^a ± 488	3212 ^a ± 394		39 ^a ± 10	105 ^{ab} ± 25		59 ^a ± 5	160 ^{abc} ± 20	
	50	7672 ^b ± 1311	6046 ^b ± 997		6054 ^b ± 1070	5712 ^b ± 1422		44 ^a ± 12	135 ^a ± 44		68 ^{ab} ± 7	203 ^c ± 61	
	100	9284 ^c ± 784	8504 ^c ± 808		7193 ^{bc} ± 1245	7026 ^b ± 1710		51 ^{ab} ± 12	150 ^b ± 30		78 ^b ± 13	179 ^{bc} ± 62	
	140	9692 ^c ± 624	10314 ^d ± 1436		7486 ^c ± 565	7160 ^b ± 1109		52 ^{ab} ± 12	151 ^b ± 28		75 ^{ab} ± 11	138 ^{abc} ± 42	
	250	10831 ^d ± 1703	11121 ^{de} ± 1989		6905 ^{bc} ± 391	5985 ^b ± 810		66 ^{bc} ± 22	145 ^b ± 34		61 ^{ab} ± 7	107 ^{ab} ± 25	
	500	9234 ^c ± 447	13532 ^f ± 1538		8161 ^c ± 776	9607 ^c ± 1478		76 ^c ± 15	133 ^b ± 15		69 ^{ab} ± 9	96 ^a ± 20	
	1000	11333 ^d ± 680	12374 ^{ef} ± 863		n.b. ± -	n.b. ± -		68 ^{bc} ± 10	82 ^a ± 17		n.b. ± -	n.b. ± -	
<i>Avena sativa</i>	25	3610 ^a ± 787	2474 ^a ± 391		3383 ^a ± 1662	2133 ^a ± 610		36 ^a ± 11	69 ^{ab} ± 30		42 ± 16	71 ± 15	
	50	6505 ^b ± 1331	4385 ^b ± 1233		4817 ^a ± 964	2437 ^a ± 510		40 ^{ab} ± 13	85 ^{ab} ± 41		39 ± 7	62 ± 15	
	100	9257 ^c ± 936	5519 ^b ± 901		6845 ^b ± 1258	3782 ^{ab} ± 762		46 ^{ab} ± 11	103 ^b ± 37		44 ± 9	66 ± 13	
	140	10939 ^d ± 1672	5767 ^b ± 1224		7569 ^b ± 1193	4048 ^b ± 302		48 ^{ab} ± 11	112 ^{ab} ± 55		39 ± 6	64 ± 19	
	250	11564 ^d ± 1550	10251 ^d ± 2369		7882 ^b ± 768	5846 ^{ab} ± 2328		57 ^{bc} ± 17	96 ^{ab} ± 44		41 ± 9	63 ± 25	
	500	15396 ^e ± 1883	8220 ^c ± 1413		10169 ^c ± 1616	4649 ^{ab} ± 1137		67 ^c ± 10	45 ^a ± 9		39 ± 4	33 ± 14	
	1000	n.b. ± -	n.b. ± -		n.b. ± -	n.b. ± -		n.b. ± -	n.b. ± -		n.b. ± -	n.b. ± -	

Mittelwert ± Standardabweichung (für P-Dosen 25-500 mg ohne CaCO_3 n=7 sowie mit CaCO_3 n=5, P-Dosis 1000 mg $0 \leq n \leq 7$); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte (a<b<c<d<e<f; P<0,05) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test); Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; CaCO_3 -Zusatz entspricht 6500 mg $\text{CaCO}_3 \text{ kg}^{-1}$ BoTM; n.b. ... nicht bestimmt

Anlage 10: Gefäßversuch A – Spearmans Korrelationskoeffizienten untersuchter Elemente in den drei untersuchten Pflanzenspezies

	ohne CaCO ₃ mit CaCO ₃	Ca		Fe		K		Mg		Mn		Na		P		Zn	
		Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
<i>Arrhenatherum elatius</i>	Ca	1	1	-0,120	-0,356*	-0,298*	0,724**	0,727**	0,734**	0,393**	-0,339*	-0,154	-0,350*	-0,386**	0,684**	0,216	-0,098
	Fe	-0,026	0,351	1	1	0,127	-0,588**	-0,393**	-0,362*	0,597**	0,410**	-0,032	0,069	0,207	-0,475**	0,513**	0,239
	K	-0,675**	-0,097	0,352	-0,672**	1	1	-0,187	0,527**	0,211	-0,257	0,507**	-0,454**	0,728**	0,894**	0,597**	-0,246
	Mg	0,689**	-0,208	0,294	-0,030	-0,377*	0,290	1	1	-0,097	-0,262	-0,033	-0,197	-0,450**	0,488**	0,076	-0,203
	Mn	0,667**	0,430*	0,150	0,663**	-0,340	-0,455*	0,841**	0,114	1	1	-0,116	0,185	0,377*	-0,030	0,629**	0,697**
	Na	-0,340	0,070	-0,234	0,232	0,283	-0,071	-0,614**	0,558**	-0,363*	0,650**	1	1	0,233	-0,435**	0,276	0,223
	P	-0,476**	0,018	0,473**	-0,685**	0,531**	0,863**	0,174	0,188	0,109	-0,500**	-0,155	-0,139	1	1	0,361*	-0,088
<i>Elymus repens</i>	Zn	0,162	0,408*	-0,562**	0,197	-0,249	-0,050	-0,333	0,227	-0,020	0,781**	0,482**	0,625**	-0,509**	-0,123	1	1
	Ca	1	1	0,005	-0,312*	0,071	0,669**	0,752**	0,784**	0,255	0,425**	0,258	0,031	0,091	0,822**	-0,020	0,277
	Fe	0,275	0,064	1	1	0,239	-0,451**	-0,422**	-0,551**	0,220	0,147	0,373**	0,179	0,141	-0,373**	0,204	0,240
	K	-0,305	0,274	0,498**	-0,360	1	1	-0,046	0,751**	0,452**	0,344*	0,498**	-0,474**	0,557**	0,895**	0,654**	-0,075
	Mg	0,796**	-0,061	0,513**	0,195	0,071	0,188	1	1	0,014	0,233	0,075	-0,206	-0,036	0,817**	-0,122	-0,093
	Mn	0,781**	-0,049	0,388*	0,402*	0,125	-0,043	0,697**	0,079	1	1	0,126	0,270	0,670**	0,561**	0,744**	0,644**
	Na	0,170	-0,262	0,767**	0,202	0,604**	-0,584**	0,495**	0,350	0,393*	0,219	1	1	0,189	-0,215	0,402**	0,585**
<i>Avena sativa</i>	P	-0,317	0,195	0,289	-0,541**	0,721**	0,574**	0,191	0,158	0,094	-0,557**	0,463**	-0,322	1	1	0,722**	0,142
	Zn	0,211	0,081	0,083	0,177	0,303	0,219	0,482**	0,362*	0,554**	0,783**	0,246	0,172	0,592**	-0,060	1	1
	Ca	1	1	-0,384*	-0,339*	-0,361*	0,445**	0,795**	0,658**	0,672**	0,082	-0,082	0,053	-0,020	0,696**	0,017	0,385*
	Fe	-0,300	0,295	1	1	0,455**	-0,496**	-0,391*	-0,499**	-0,306*	0,515**	0,487**	0,461**	0,212	-0,597**	0,437**	0,315*
	K	-0,393*	-0,156	0,494**	-0,746**	1	1	-0,249	0,266	0,074	-0,271	0,813**	-0,537**	0,675**	0,761**	0,834**	-0,084
	Mg	0,628**	0,317	-0,363*	0,671**	-0,734**	-0,607**	1	1	0,374*	0,065	0,015	0,005	0,015	0,672**	0,022	0,033
	Mn	0,725**	0,393*	0,037	0,748**	-0,107	-0,345	0,349	0,361*	1	1	0,109	0,529**	0,331*	0,068	0,402**	0,708**
	Na	-0,170	0,400*	0,361*	0,680**	0,845**	-0,615**	-0,636**	0,878**	-0,064	0,389*	1	1	0,622**	-0,384*	0,861**	0,639**
	P	-0,468**	0,029	0,534**	-0,796**	0,771**	0,713**	-0,595**	-0,441*	-0,088	-0,467**	0,709**	-0,362*	1	1	0,818**	0,145
	Zn	0,273	0,290	0,283	0,416*	0,519**	-0,274	-0,208	0,698**	0,513**	0,322	0,603**	0,613**	0,457*	-0,213	1	1

ohne CaCO₃ A.e. n=44, E.r. n=49, A.s. n=42; mit CaCO₃ (6,5 g kg⁻¹ BoTM) A.e. E.r. A.s. n=30; ** (*) ... Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (0,05) 2-seitig signifikant.

Anlage 11: Gefäßversuch A – Biomasse und Prolinkonzentration von/in Spross und Wurzel der untersuchten Pflanzenspezies

Spezies	mg P kg ⁻¹ BoTM	Biomasse [g PfTM pro Gefäß]				Prolin [μmol g ⁻¹ PfTM]			
		ohne CaCO ₃		6500 mg CaCO ₃		ohne CaCO ₃		6500 mg CaCO ₃	
		Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
<i>Arrhenatherum elatius</i>	25	3,42 ^c ± 1,14	1,48 ^{ab} ± 0,96	3,40 ^c ± 0,35	1,79 ± 0,78	15,39 ^b ± 8,91	3,61 ^{bc} ± 2,06	3,96 ^a ± 0,62	1,11 ^a ± 0,31
	50	3,89 ^c ± 1,07	1,43 ^{ab} ± 0,65	3,24 ^c ± 0,33	1,43 ± 0,23	8,22 ^a ± 3,59	2,51 ^{abc} ± 1,23	3,45 ^a ± 0,88	1,25 ^a ± 0,17
	100	3,84 ^c ± 1,26	1,71 ^{ab} ± 0,96	3,26 ^c ± 0,47	1,46 ± 0,76	7,60 ^a ± 5,54	1,65 ^{ab} ± 0,75	4,15 ^a ± 0,40	1,22 ^a ± 0,22
	140	4,16 ^c ± 0,69	2,51 ^b ± 1,02	3,44 ^c ± 0,35	2,03 ± 0,91	4,39 ^a ± 1,24	1,29 ^a ± 0,69	4,17 ^a ± 0,53	1,17 ^a ± 0,29
	250	4,04 ^c ± 0,78	2,32 ^b ± 0,86	3,03 ^c ± 0,58	1,42 ± 0,61	4,13 ^a ± 1,01	1,42 ^a ± 0,75	5,00 ^a ± 1,26	1,49 ^a ± 0,34
	500	1,76 ^b ± 0,61	1,15 ^{ab} ± 0,55	1,04 ^b ± 0,22	0,92 ± 0,11	18,67 ^b ± 15,52	5,38 ^c ± 3,46	31,62 ^b ± 11,43	7,70 ^b ± 3,22
	1000	0,25 ^a ± 0,17	0,32 ^a ± 0,12	0,14 ^a ± -	n.b. ± -	120,94 ^c ± 45,83	40,85 ^d ± 22,37	160,86 ^c ± 111,1	n.b. ± -
<i>Elymus repens</i>	25	2,66 ^b ± 0,28	0,48 ^{ab} ± 0,12	2,90 ^c ± 0,53	1,02 ± 0,19	6,13 ^a ± 1,12	1,82 ^{ab} ± 0,36	2,75 ^a ± 0,31	1,25 ^a ± 0,25
	50	3,02 ^c ± 0,33	0,55 ^{ab} ± 0,15	2,72 ^c ± 0,56	0,82 ± 0,20	4,95 ^a ± 1,17	1,72 ^{ab} ± 0,30	2,81 ^a ± 0,46	1,33 ^a ± 0,34
	100	3,26 ^c ± 0,26	0,71 ^{bc} ± 0,18	2,87 ^c ± 0,65	0,89 ± 0,30	3,79 ^a ± 0,42	1,40 ^a ± 0,30	2,87 ^a ± 0,47	1,36 ^a ± 0,23
	140	3,37 ^c ± 0,32	0,77 ^{bc} ± 0,26	3,09 ^c ± 0,38	1,00 ± 0,18	7,10 ^a ± 7,21	2,34 ^{ab} ± 1,67	2,91 ^a ± 0,50	1,27 ^a ± 0,12
	250	3,26 ^c ± 0,29	0,89 ^c ± 0,29	3,16 ^c ± 0,39	1,33 ± 0,37	3,69 ^a ± 0,66	1,36 ^a ± 0,32	3,06 ^a ± 0,51	1,06 ^a ± 0,26
	500	2,51 ^b ± 0,32	0,55 ^{ab} ± 0,19	2,08 ^b ± 0,49	0,81 ± 0,33	10,11 ^b ± 2,56	2,33 ^b ± 0,33	5,54 ^b ± 1,37	2,07 ^b ± 0,72
	1000	0,81 ^a ± 0,18	0,34 ^a ± 0,07	0,07 ^a ± 0,06	n.b. ± -	14,65 ^b ± 7,21	9,02 ^c ± 2,06	82,72 ^c ± 27,52	n.b. ± -
<i>Avena sativa</i>	25	3,54 ^b ± 0,86	0,94 ^b ± 0,21	4,31 ^b ± 1,65	1,54 ^b ± 0,45	7,33 ^a ± 1,39	1,02 ^a ± 0,18	3,94 ^a ± 1,28	0,71 ^a ± 0,37
	50	3,69 ^b ± 0,95	1,01 ^b ± 0,29	4,71 ^b ± 1,17	1,82 ^b ± 0,27	7,42 ^a ± 1,35	0,95 ^a ± 0,23	3,58 ^a ± 0,86	0,62 ^a ± 0,23
	100	4,37 ^b ± 0,91	1,45 ^b ± 0,35	4,23 ^b ± 1,32	1,46 ^b ± 0,32	9,66 ^a ± 2,86	0,66 ^a ± 0,14	3,70 ^a ± 1,21	0,64 ^a ± 0,32
	140	4,43 ^b ± 1,04	1,45 ^b ± 0,29	4,61 ^b ± 1,09	1,88 ^b ± 0,27	7,56 ^a ± 2,21	0,68 ^a ± 0,20	4,07 ^a ± 0,84	0,45 ^a ± 0,05
	250	3,76 ^b ± 0,83	1,12 ^b ± 0,14	3,81 ^b ± 1,17	1,35 ^b ± 0,61	6,99 ^a ± 1,13	0,85 ^a ± 0,30	7,62 ^a ± 4,96	1,11 ^a ± 1,15
	500	0,45 ^a ± 0,12	0,31 ^a ± 0,06	0,38 ^b ± 0,14	0,25 ^a ± 0,09	61,68 ^b ± 13,87	4,68 ^b ± 3,21	65,52 ^b ± 16,24	5,82 ^b ± 3,85
	1000	n.b. ± -	n.b. ± -	0,08 ^a ± 0,05	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -	102,78 ^b ± 2,89	n.b. ± -

Mittelwert ± Standardabweichung (für P-Dosen 25-500 mg ohne CaCO₃ n=7 sowie mit CaCO₃ je n=5, P-Dosis 1000 mg 0≤n≤7); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte (a<b<c<d; P<0,05) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test). Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; CaCO₃-Zusatz entspricht 6500 mg CaCO₃ kg⁻¹ BoTM; Prolindaten für die Berechnung des Student-Newman-Keuls-Tests logarithmiert; n.b. ... nicht bestimmt

Anlage 12: Gefäßversuch A – pH-Wert im Gefäßboden und effektive und maximale Quantenausbeute (Chlorophyll-Fluoreszenz) der untersuchten Pflanzenspezies

Spezies	mg P kg ⁻¹ BoTM	pH-Wert im Gefäßboden		effektive Quantenausbeute ($\Delta F/F'm$, Yield)		maximale Quantenausbeute (Fv/Fm)	
		ohne CaCO ₃	6500 mg CaCO ₃	ohne CaCO ₃	6500 mg CaCO ₃	ohne CaCO ₃	6500 mg CaCO ₃
<i>Arrhenatherum elatius</i>	25	4,11 ^a ± 0,07	6,93 ^a ± 0,25	0,746 ± 0,015	0,752 ± 0,017	0,771 ± 0,030	0,781 ± 0,006
	50	4,00 ^a ± 0,04	7,03 ^{ab} ± 0,09	0,753 ± 0,014	0,749 ± 0,015	0,778 ± 0,010	0,785 ± 0,012
	100	4,22 ^a ± 0,13	7,04 ^{ab} ± 0,07	0,754 ± 0,016	0,760 ± 0,023	0,781 ± 0,010	0,788 ± 0,011
	140	4,69 ^b ± 0,28	7,04 ^{ab} ± 0,10	0,741 ± 0,019	0,761 ± 0,007	0,770 ± 0,025	0,789 ± 0,012
	250	5,56 ^c ± 0,27	7,12 ^{ab} ± 0,04	0,743 ± 0,031	0,760 ± 0,012	0,766 ± 0,021	0,788 ± 0,010
	500	6,35 ^d ± 0,13	7,08 ^{ab} ± 0,12	0,741 ± 0,023	0,742 ± 0,024	0,787 ± 0,016	0,787 ± 0,015
	1000	6,21 ^d ± 0,30	7,34 ^b ± 0,32	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -
<i>Elymus repens</i>	25	4,15 ^a ± 0,10	7,19 ^{ab} ± 0,23	0,748 ± 0,005	0,743 ± 0,015	0,792 ± 0,016	0,787 ^{ab} ± 0,004
	50	4,18 ^a ± 0,23	7,18 ^{ab} ± 0,10	0,767 ± 0,012	0,749 ± 0,014	0,793 ± 0,012	0,785 ^{ab} ± 0,011
	100	4,55 ^b ± 0,19	7,05 ^a ± 0,11	0,748 ± 0,022	0,747 ± 0,011	0,780 ± 0,016	0,783 ^{ab} ± 0,014
	140	5,55 ^c ± 0,16	7,02 ^a ± 0,17	0,735 ± 0,012	0,755 ± 0,013	0,777 ± 0,013	0,795 ^b ± 0,013
	250	6,06 ^d ± 0,20	7,09 ^{ab} ± 0,13	0,748 ± 0,016	0,753 ± 0,018	0,785 ± 0,006	0,786 ^{ab} ± 0,015
	500	6,35 ^e ± 0,09	6,95 ^a ± 0,07	0,761 ± 0,013	0,735 ± 0,016	0,783 ± 0,018	0,768 ^a ± 0,010
	1000	6,06 ^d ± 0,35	7,34 ^b ± 0,24	0,763 ± 0,017	n.b. ± -	0,796 ± 0,007	n.b. ± -
<i>Avena sativa</i>	25	4,08 ^a ± 0,08	7,14 ± 0,26	0,761 ± 0,027	0,737 ± 0,012	0,793 ± 0,019	0,796 ± 0,012
	50	4,06 ^a ± 0,11	7,09 ± 0,22	0,760 ± 0,010	0,718 ± 0,035	0,787 ± 0,014	0,789 ± 0,008
	100	4,61 ^b ± 0,56	7,07 ± 0,17	0,754 ± 0,022	0,724 ± 0,026	0,785 ± 0,008	0,793 ± 0,007
	140	5,65 ^c ± 0,20	7,05 ± 0,10	0,760 ± 0,017	0,734 ± 0,021	0,791 ± 0,007	0,793 ± 0,008
	250	6,24 ^d ± 0,18	7,10 ± 0,19	0,754 ± 0,021	0,733 ± 0,017	0,786 ± 0,008	0,791 ± 0,009
	500	6,57 ^e ± 0,24	6,97 ± 0,08	0,736 ± 0,021	0,689 ± 0,097	0,778 ± 0,011	0,730 ± 0,121
	1000	6,16 ^d ± 0,43	7,08 ± 0,33	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -

Mittelwert ± Standardabweichung (pH-Wert n=7; Quantenausbeute P-Dosen 25-500 mg ohne CaCO₃ E.r. und A.s. n=4, A.e. n=7 sowie mit CaCO₃ je n=5, P-Dosis 1000 mg ohne CaCO₃ E.r. n=4); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte (a<b<c<d<e; P<0,05) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test); Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; CaCO₃-Zusatz entspricht 6500 mg CaCO₃ kg⁻¹ BoTM; n.b. ... nicht bestimmt

Anlage 13: Gefäßversuch A – Lösliches Protein nach Bradford

Spezies	mg P kg ⁻¹ BoTM	Lösliches Protein [mg g ⁻¹ PFTM]			
		ohne CaCO ₃		6500 mg CaCO ₃	
		Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
<i>Arrhenatherum elatius</i>	25	31,02 ^{abc} ± 0,58	19,90 ± 1,23	40,10 ^{ab} ± 3,33	18,75 ^b ± 0,84
	50	29,44 ^{abc} ± 1,66	19,64 ± 1,48	33,19 ^a ± 0,67	15,50 ^a ± 0,06
	100	28,73 ^{ab} ± 4,15	18,41 ± 2,14	39,76 ^{ab} ± 1,27	14,91 ^a ± 1,94
	140	38,40 ^c ± 4,47	20,71 ± 0,35	34,70 ^a ± 0,79	12,64 ^a ± 0,42
	250	32,83 ^{abc} ± 0,46	17,87 ± 0,41	39,05 ^{ab} ± 1,68	14,63 ^a ± 0,06
	500	36,19 ^{bc} ± 0,90	16,07 ± 0,72	45,63 ^b ± 3,26	20,15 ^b ± 0,51
	1000	25,89 ^a ± 1,89	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -
<i>Elymus repens</i>	25	19,19 ^a ± 4,25	20,77 ^{bc} ± 0,45	20,81 ^a ± 0,58	16,35 ^{ab} ± 1,14
	50	19,50 ^a ± 1,51	21,07 ^{bc} ± 1,07	24,75 ^a ± 1,12	15,40 ^{ab} ± 0,45
	100	26,13 ^a ± 7,45	18,17 ^b ± 2,22	23,92 ^a ± 1,57	14,68 ^a ± 0,87
	140	23,58 ^a ± 2,67	17,22 ^{ab} ± 0,18	20,22 ^a ± 0,64	15,66 ^{ab} ± 0,50
	250	25,58 ^a ± 3,62	14,38 ^a ± 1,69	24,17 ^a ± 3,82	15,65 ^{ab} ± 0,53
	500	22,22 ^a ± 1,08	23,84 ^c ± 1,20	32,70 ^b ± 0,66	17,49 ^b ± 0,43
	1000	39,25 ^b ± 0,85	24,11 ^c ± 0,97	n.b. ± -	n.b. ± -
<i>Avena sativa</i>	25	29,94 ^a ± 4,08	14,34 ^a ± 0,11	44,20 ± 1,14	12,90 ^{ab} ± 0,47
	50	31,48 ^a ± 0,66	12,67 ^a ± 0,50	41,59 ± 0,45	13,96 ^{ab} ± 1,78
	100	28,93 ^a ± 0,86	12,84 ^a ± 2,57	49,15 ± 0,87	16,83 ^b ± 0,32
	140	40,93 ^a ± 5,63	16,66 ^a ± 1,51	46,97 ± 0,50	12,65 ^{ab} ± 0,71
	250	39,10 ^a ± 2,48	14,95 ^a ± 1,43	39,67 ± 0,53	11,83 ^a ± 0,34
	500	59,75 ^b ± 5,40	22,67 ^b ± 0,19	50,01 ± 0,43	23,98 ^c ± 2,52
	1000	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -	n.b. ± -

Mittelwert ± Standardabweichung (jeweils n=2); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte (a<b<c; P<0,05) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test). Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; CaCO₃-Zusatz entspricht 6500 mg CaCO₃ kg⁻¹ BoTM; n.b. ... nicht bestimmt

Anlage 14: Gefäßversuch A – Quantifizierung der Aktivitäten der Superoxid-Dismutase-Isoenzyme mittels densitometrischer Auswertung der Gele

Spezies	mg P kg ⁻¹ BoTM	Aktivitäten der SOD-Isoenzyme [OD µg ⁻¹ Protein]											
		ohne CaCO ₃						6500 mg CaCO ₃					
		Sprossgewebe			Wurzelgewebe			Sprossgewebe			Wurzelgewebe		
		Mn-SOD	Cu/Zn-SOD ₁	Cu/Zn-SOD ₂	Mn-SOD	Cu/Zn-SOD ₁	Cu/Zn-SOD ₂	Mn-SOD	Cu/Zn-SOD ₁	Cu/Zn-SOD ₂	Mn-SOD	Cu/Zn-SOD ₁	Cu/Zn-SOD ₂
<i>Arrhenatherum elatius</i>	25	n.w.	133	100	n.w.	1036	289	590	377	630	n.w.	903	423
	50	n.w.	187	173	n.w.	1225	273	631	509	741	n.w.	800	371
	100	n.w.	131	139	n.w.	1938	528	873	659	812	n.w.	2627	624
	140	n.w.	138	137	n.w.	1187	362	816	700	879	n.w.	1972	527
	250	n.w.	273	204	n.w.	1312	319	930	934	847	n.w.	2037	610
	500	n.w.	183	129	n.w.	1108	392	301	629	700	n.w.	1438	552
	1000	n.w.	n.w.	128	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
<i>Elymus repens</i>	25	n.w.	598	883	402	1877	306	n.w.	781	767	573	2611	726
	50	n.w.	442	672	393	2171	338	n.w.	977	554	532	2803	699
	100	n.w.	743	773	235	2887	296	n.w.	1061	595	615	2419	762
	140	n.w.	503	864	221	955	307	n.w.	1057	858	849	3102	860
	250	n.w.	645	657	745	2549	298	n.w.	1086	705	512	2962	830
	500	n.w.	763	1052	216	1201	219	n.w.	753	554	630	3037	696
	1000	n.w.	616	423	385	1775	322	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
<i>Avena sativa</i>	25	n.w.	1021	787	n.w.	1434	222	n.w.	484	759	n.w.	1312	623
	50	n.w.	616	323	n.w.	1030	264	n.w.	750	640	n.w.	1492	663
	100	n.w.	1578	755	n.w.	2025	381	n.w.	1261	864	n.w.	1439	805
	140	n.w.	481	589	n.w.	1500	324	n.w.	1010	972	n.w.	1680	664
	250	n.w.	1188	698	n.w.	1080	288	n.w.	1176	928	n.w.	1512	741
	500	n.w.	599	794	n.w.	1464	400	n.w.	1483	1416	n.w.	1355	657
	1000	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

SOD-Aktivitäten/Flächenintegrale gemessen als optische Dichte [OD]; Gele 10 %ig (Native-PAGE); aufgetragene lösliche Proteinmenge 50 µg; Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; CaCO₃-Zusatz entspricht 6500 mg CaCO₃ kg⁻¹ BoTM; n.w. ... nicht nachweisbar; n.b. ... nicht bestimmt

Anlage 15: Gefäßversuch B – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PftM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 1: Ca, Cd, Fe und K

Spezies	Behandlung	Ca		Cd		Fe		K	
		Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
<i>Arrhenatherum elatius</i>	Kontrolle	8187 ± 1219	34340 ± 5188	n.w. ± -	3,34 ± 1,63	140 ^b ± 39	1206 ^b ± 48	30720 ^b ± 3051	8836 ^b ± 602
	N	7511 ± 625	35546 ± 3595	0,32 ± 1,41	4,24 ± 3,90	65 ^a ± 20	1180 ^{ab} ± 181	23169 ^a ± 1227	5877 ^a ± 506
	P	7921 ± 746	36266 ± 9013	0,59 ± 0,59	5,14 ± 1,75	154 ^b ± 40	2618 ^{ab} ± 1050	28614 ^b ± 963	11027 ^c ± 714
	Fe	8624 ± 1067	42332 ± 9245	1,04 ± 0,38	6,22 ± 3,33	101 ^{ab} ± 43	980 ^a ± 57	29901 ^b ± 1009	8401 ^b ± 298
	2AE	8736 ± 659	45482 ± 18637	0,68 ± 0,82	4,96 ± 3,09	134 ^b ± 19	1495 ^{ab} ± 532	27885 ^b ± 1610	8982 ^b ± 389
<i>Elymus repens</i>	Kontrolle	13426 ± 3446	38930 ± 8097	0,50 ± 0,84	9,64 ^a ± 1,51	359 ^b ± 20	1013 ^a ± 47	23439 ^{ab} ± 2631	8390 ^{cd} ± 509
	N	9563 ± 1805	63446 ± 25308	n.w. ± -	9,28 ^a ± 1,73	177 ^a ± 42	1171 ^a ± 71	22656 ^a ± 2011	7317 ^a ± 440
	P	16891 ± 6376	60458 ± 19235	0,14 ± 1,40	10,18 ^a ± 3,21	390 ^b ± 72	1654 ^b ± 229	25806 ^b ± 1140	8755 ^d ± 194
	Fe	14830 ± 4540	51368 ± 15167	0,68 ± 0,99	14,68 ^b ± 1,61	325 ^b ± 52	1170 ^a ± 54	23691 ^{ab} ± 866	7781 ^{ab} ± 242
	2AE	14569 ± 1497	41576 ± 15657	n.w. ± -	8,92 ^a ± 3,57	333 ^b ± 33	1201 ^a ± 206	22206 ^a ± 791	7987 ^{bc} ± 276
<i>Avena sativa</i>	Kontrolle	6281 ^b ± 309	37328 ± 8786	0,14 ± 0,59	5,50 ^a ± 3,18	66 ^a ± 25	1205 ^a ± 108	26409 ^b ± 1209	7211 ^b ± 432
	N	4329 ^a ± 451	41520 ± 10598	n.w. ± -	7,15 ^a ± 1,46	239 ^c ± 36	1026 ^a ± 98	14682 ^a ± 666	3239 ^a ± 136
	P	4763 ^a ± 434	41090 ± 5606	n.w. ± -	4,42 ^a ± 1,95	118 ^{ab} ± 40	2009 ^b ± 757	31998 ^c ± 3907	8869 ^c ± 369
	Fe	6054 ^b ± 862	47714 ± 11974	n.w. ± -	10,54 ^b ± 0,80	139 ^b ± 56	999 ^a ± 60	26931 ^b ± 2127	7461 ^b ± 397
	2AE	6185 ^b ± 416	40190 ± 4966	0,23 ± 0,82	4,06 ^a ± 1,51	67 ^a ± 22	1204 ^a ± 155	25599 ^b ± 981	7214 ^b ± 224

Mittelwert ± Standardabweichung (je n=5); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte ($a < b < c$; $P < 0,05$) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test); Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; Elementgabe je kg^{-1} BoTM: 200 mg N als NH_4NO_3 , 140 mg P als K_2HPO_4 und 2,4 mg Fe als Chelat (Fe(III)-EDTA) zugegeben, 4 mg 2-Aminoethanol (2AE) dm^{-2} als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; die Kontrollen blieben unbehandelt; n.w. ... nicht nachweisbar

Anlage 16: Gefäßversuch B – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PfTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 2: Mg, Mn, Na, P und Zn

Spezies	Behandlung	Mg		Mn		Na		P		Zn	
		Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
<i>Arrhenatherum elatius</i>	Ko.	4266 ^b ± 191	3178 ± 248	19 ^{ab} ± 1	61 ^{ab} ± 3	196 ^b ± 65	1051 ^b ± 72	3446 ^b ± 453	7123 ± 432	24 ^a ± 1	54 ± 4
	N	4607 ^c ± 227	3623 ± 159	17 ^a ± 2	55 ^a ± 1	131 ^a ± 10	1872 ^c ± 120	2995 ^a ± 173	7075 ± 905	24 ^a ± 1	51 ± 4
	P	4028 ^a ± 85	3461 ± 559	29 ^c ± 2	64 ^{ab} ± 8	216 ^b ± 14	668 ^a ± 131	3784 ^b ± 128	5867 ± 1146	22 ^a ± 1	61 ± 32
	Fe	4869 ^d ± 116	3038 ± 183	20 ^b ± 2	60 ^{ab} ± 6	157 ^{ab} ± 24	1199 ^b ± 162	3771 ^b ± 373	8304 ± 1527	29 ^b ± 2	49 ± 5
	2AE	4883 ^d ± 137	3542 ± 464	21 ^b ± 2	70 ^b ± 12	162 ^{ab} ± 32	1257 ^b ± 405	3598 ^b ± 288	8407 ± 3342	24 ^a ± 2	55 ± 5
<i>Elymus repens</i>	Ko.	3395 ^b ± 216	2773 ^a ± 229	33 ^b ± 4	65 ^a ± 8	296 ^{ab} ± 60	1325 ^a ± 248	4745 ^{ab} ± 783	9917 ± 1737	40 ± 3	86 ± 35
	N	3136 ^b ± 220	4346 ^b ± 400	24 ^a ± 4	78 ^{ab} ± 14	230 ^a ± 60	3090 ^b ± 374	3554 ^a ± 633	13558 ± 4621	46 ± 3	75 ± 7
	P	2787 ^a ± 264	4917 ^b ± 619	48 ^c ± 5	93 ^b ± 16	457 ^b ± 189	1027 ^a ± 220	5759 ^b ± 1562	10313 ± 2675	41 ± 2	84 ± 7
	Fe	3154 ^b ± 233	4085 ^b ± 466	32 ^b ± 5	78 ^{ab} ± 15	337 ^{ab} ± 89	1369 ^a ± 269	5058 ^{ab} ± 837	11872 ± 3498	70 ± 56	85 ± 3
	2AE	3227 ^b ± 51	3115 ^a ± 789	32 ^b ± 2	63 ^a ± 10	316 ^{ab} ± 23	1187 ^a ± 120	4837 ^{ab} ± 338	9661 ± 1742	40 ± 3	75 ± 8
<i>Avena sativa</i>	Ko.	3404 ^b ± 113	2789 ± 274	14 ^a ± 2	54 ± 7	435 ^a ± 24	1479 ^b ± 182	5089 ^b ± 272	8230 ^{ab} ± 1320	13 ^b ± 1	51 ^{ab} ± 5
	N	2287 ^a ± 143	3018 ± 501	21 ^a ± 3	52 ± 9	1206 ^c ± 195	3048 ^c ± 220	3085 ^a ± 140	8678 ^{ab} ± 1722	19 ^c ± 4	50 ^{ab} ± 3
	P	2458 ^a ± 188	3059 ± 345	34 ^b ± 16	64 ± 9	824 ^b ± 216	1112 ^a ± 84	5720 ^c ± 681	6814 ^a ± 357	9 ^a ± 1	45 ^a ± 4
	Fe	3193 ^b ± 302	3130 ± 289	12 ^a ± 1	67 ± 11	477 ^a ± 52	1833 ^b ± 432	4773 ^b ± 512	11369 ^b ± 3335	18 ^c ± 1	56 ^b ± 3
	2AE	3308 ^b ± 112	2872 ± 87	15 ^a ± 2	59 ± 4	434 ^a ± 47	1556 ^b ± 104	4750 ^b ± 327	9402 ^{ab} ± 1206	13 ^b ± 1	58 ^{ab} ± 6

Mittelwert ± Standardabweichung (je n=5); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte (a<b<c<d; P<0,05) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test); Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; Elementgabe je kg⁻¹ BoTM: 200 mg N als NH₄NO₃, 140 mg P als K₂HPO₄ und 2,4 mg Fe als Chelat (Fe(III)-EDTA) zugegeben, 4 mg 2-Aminoethanol (2AE) dm⁻² als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; die Kontrolle (Ko.) blieb unbehandelt

Anlage 17: Gefäßversuch B – Biomasse und Prolinkonzentration von/in Spross und Wurzel, pH-Wert im Gefäßboden sowie effektive und maximale Quantenausbeute (Chlorophyll-Fluoreszenz) der untersuchten Pflanzenspezies

Spezies	Behandlung	Biomasse [g PfTM dm ⁻²]		Prolin [μmol g ⁻¹ PfTM]		pH-Wert im Gefäßboden	effektive Quantenausbeute (ΔF/F'm, Yield)	maximale Quantenausbeute (Fv/Fm)
		Spross	Wurzel	Spross	Wurzel			
<i>Arrhenatherum elatius</i>	Kontrolle	1,01 ^b ± 0,05	2,03 ^a ± 0,28	1,04 ^a ± 0,13	0,31 ^b ± 0,03	7,49 ^b ± 0,04	0,725 ^b ± 0,029	0,745 ^b ± 0,023
	N	3,46 ^c ± 0,13	3,17 ^b ± 0,53	1,58 ^b ± 0,22	0,40 ^c ± 0,03	7,37 ^a ± 0,04	0,740 ^b ± 0,007	0,771 ^c ± 0,011
	P	0,89 ^a ± 0,04	1,92 ^a ± 0,18	0,97 ^a ± 0,04	0,23 ^a ± 0,05	7,53 ^c ± 0,04	0,665 ^a ± 0,037	0,726 ^a ± 0,016
	Fe	1,11 ^b ± 0,05	2,18 ^a ± 0,18	1,01 ^a ± 0,03	0,23 ^a ± 0,04	7,44 ^b ± 0,01	0,733 ^b ± 0,011	0,753 ^{bc} ± 0,018
	2AE	1,09 ^b ± 0,05	2,16 ^a ± 0,25	1,03 ^a ± 0,06	0,23 ^a ± 0,02	7,46 ^b ± 0,03	0,717 ^b ± 0,033	0,760 ^{bc} ± 0,007
<i>Elymus repens</i>	Kontrolle	0,69 ^{ab} ± 0,08	1,27 ^a ± 0,14	0,94 ± 0,18	0,46 ± 0,04	7,48 ^a ± 0,03	0,745 ^b ± 0,031	0,766 ^{ab} ± 0,024
	N	3,18 ^c ± 0,18	2,50 ^b ± 0,38	1,20 ± 0,07	0,47 ± 0,08	7,54 ^b ± 0,05	0,756 ^b ± 0,034	0,783 ^b ± 0,014
	P	0,53 ^a ± 0,10	1,24 ^a ± 0,12	0,94 ± 0,35	0,38 ± 0,08	7,54 ^{ab} ± 0,02	0,703 ^a ± 0,019	0,765 ^{ab} ± 0,006
	Fe	0,66 ^{ab} ± 0,05	1,41 ^a ± 0,10	0,80 ± 0,05	0,39 ± 0,04	7,49 ^b ± 0,02	0,720 ^{ab} ± 0,011	0,763 ^{ab} ± 0,018
	2AE	0,75 ^b ± 0,09	1,26 ^a ± 0,11	1,20 ± 0,47	0,48 ± 0,14	7,49 ^a ± 0,03	0,705 ^a ± 0,022	0,756 ^a ± 0,022
<i>Avena sativa</i>	Kontrolle	1,32 ^{ab} ± 0,12	1,23 ^b ± 0,07	1,18 ± 0,22	0,24 ± 0,05	7,43 ^a ± 0,01	0,701 ^{ab} ± 0,033	0,763 ^a ± 0,003
	N	6,99 ^c ± 0,37	3,15 ^d ± 0,22	1,48 ± 0,64	0,25 ± 0,13	7,47 ^b ± 0,02	0,707 ^{ab} ± 0,014	0,777 ^b ± 0,009
	P	1,09 ^a ± 0,08	1,02 ^a ± 0,17	1,06 ± 0,16	0,19 ± 0,07	7,45 ^{ab} ± 0,01	0,690 ^a ± 0,017	0,752 ^a ± 0,009
	Fe	1,47 ^b ± 0,10	1,46 ^c ± 0,11	1,29 ± 0,35	0,33 ± 0,05	7,42 ^a ± 0,02	0,726 ^b ± 0,021	0,760 ^a ± 0,009
	2AE	1,40 ^b ± 0,12	1,25 ^b ± 0,10	1,26 ± 0,54	0,21 ± 0,05	7,41 ^a ± 0,03	0,710 ^{ab} ± 0,029	0,755 ^a ± 0,011

Mittelwert ± Standardabweichung (je n=5); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte (a<b<c<d; P<0,05) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test); Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; Elementgabe je kg⁻¹ BoTM: 200 mg N als NH₄NO₃, 140 mg P als K₂HPO₄ und 2,4 mg Fe als Chelat (Fe(III)-EDTA) zugegeben, 4 mg 2-Aminoethanol (2AE) dm⁻² als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; die Kontrollen blieben unbehandelt

Anlage 18: Gefäßversuch B – Lösliches Protein nach Bradford und Quantifizierung der Aktivitäten der Superoxid-Dismutase-Isoenzyme mittels densitometrischer Auswertung der Gele

Spezies	Behandlung	Spross				Wurzel			
		Lösliches Protein	Mn-SOD	Cu/Zn-SOD ₁	Cu/Zn-SOD ₂	Lösliches Protein	Mn-SOD	Cu/Zn-SOD ₁	Cu/Zn-SOD ₂
		[mg g ⁻¹ TM]	[OD µg ⁻¹ Protein]	[OD µg ⁻¹ Protein]	[OD µg ⁻¹ Protein]	[mg g ⁻¹ TM]	[OD µg ⁻¹ Protein]	[OD µg ⁻¹ Protein]	[OD µg ⁻¹ Protein]
<i>Arrhenatherum elatius</i>	Kontrolle	6,53 ± -	n.w.	n.w.	1177	2,75 ± -	n.w.	1984	762
	N	9,74 ± -	n.w.	n.w.	800	3,23 ± -	n.w.	1635	652
	P	6,18 ± -	n.w.	n.w.	1206	2,76 ± -	n.w.	1284	581
	Fe	9,77 ± -	n.w.	n.w.	614	2,41 ± -	197	2403	1013
	2AE	7,34 ± -	n.w.	n.w.	820	2,03 ± -	441	2354	883
<i>Elymus repens</i>	Kontrolle	4,25 ± -	484	936	1294	3,50 ± -	138	970	350
	N	6,83 ± -	n.w.	385	871	2,91 ± -	350	1291	612
	P	4,17 ± -	339	833	1130	3,49 ± -	166	389	321
	Fe	4,26 ± -	547	1114	1309	2,98 ± -	471	1726	611
	2AE	3,79 ± -	274	930	1179	3,18 ± -	219	540	299
<i>Avena sativa</i>	Kontrolle	4,46 ± -	n.w.	978	1424	2,73 ± -	491	1062	394
	N	4,23 ± -	n.w.	772	1457	3,76 ± -	n.w.	1223	510
	P	4,72 ± -	n.w.	815	1400	2,98 ± -	n.w.	1047	410
	Fe	3,90 ± -	n.w.	1719	1753	2,81 ± -	379	1880	682
	2AE	2,85 ± -	n.w.	1277	1741	2,13 ± -	425	954	480

SOD-Aktivitäten/Flächenintegrale gemessen als optische Dichte [OD]; Gele 10 %ig (Native-PAGE); aufgetragene lösliche Proteinmenge 50 µg; Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; Elementgabe je kg⁻¹ BoTM: 200 mg N als NH₄NO₃, 140 mg P als K₂HPO₄ und 2,4 mg Fe als Chelat (Fe(III)-EDTA) zugegeben, 4 mg 2-Aminoethanol (2AE) als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; die Kontrollen blieben unbehandelt; n.w. ... nicht nachweisbar

Anlage 19: Versuch C – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PfTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 1: Ca, Cd, Fe und K

Spezies	Behandlung	Ca		Cd		Fe		K	
		Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
<i>Arrhenatherum elatius</i>	Kontrolle	7177 \pm 1792	12268 ^{ab} \pm 1927	n.w. \pm -	1,74 \pm 1,16	614 \pm 110	2715 \pm 368	10968 ^a \pm 1353	3327 ^a \pm 195
	N	4063 \pm 697	7413 ^a \pm 792	n.w. \pm -	1,74 \pm 0,52	660 \pm 320	2013 \pm 534	12273 ^a \pm 1423	4101 ^b \pm 408
	P	6437 \pm 3413	11247 ^{ab} \pm 2401	n.w. \pm -	2,19 \pm 1,64	543 \pm 101	1986 \pm 631	14580 ^b \pm 308	4495 ^b \pm 490
	Fe	8350 \pm 4205	15031 ^b \pm 5441	n.w. \pm -	1,51 \pm 1,54	724 \pm 191	2153 \pm 245	11666 ^a \pm 1546	4027 ^b \pm 127
	2AE	7496 \pm 2272	11265 ^{ab} \pm 905	n.w. \pm -	2,64 \pm 2,38	629 \pm 87	2557 \pm 871	12915 ^{ab} \pm 1104	4195 ^b \pm 474
<i>Elymus repens</i>	Kontrolle	12601 \pm 4273	13006 \pm 3463	n.w. \pm -	1,29 \pm 2,65	667 \pm 172	2822 \pm 1655	10545 ^a \pm 1443	3950 \pm 404
	N	7765 \pm 1771	11184 \pm 3070	n.w. \pm -	1,74 \pm 1,16	517 \pm 35	1479 \pm 340	13668 ^b \pm 1124	4420 \pm 403
	P	6614 \pm 628	13044 \pm 2469	n.w. \pm -	0,84 \pm 1,56	560 \pm 95	1257 \pm 327	14433 ^b \pm 1993	4758 \pm 699
	Fe	11158 \pm 2722	10880 \pm 3522	n.w. \pm -	1,74 \pm 2,38	830 \pm 298	2541 \pm 1227	12003 ^{ab} \pm 1011	4074 \pm 496
	2AE	12689 \pm 7661	14079 \pm 5432	n.w. \pm -	1,29 \pm 1,27	975 \pm 659	1485 \pm 803	12341 ^{ab} \pm 1400	4236 \pm 302
<i>Avena sativa</i>	Kontrolle	3737 \pm 806	20757 ^b \pm 9184	1,21 \pm 0,93	n.w. \pm -	355 \pm 33	879 \pm 161	8055 ^b \pm 1176	2634 ^b \pm 816
	N	2532 \pm 590	12556 ^a \pm 3718	0,08 \pm 0,57	1,51 \pm 0,86	471 \pm 115	2461 \pm 2216	4794 ^a \pm 1148	1805 ^a \pm 416
	P	2994 \pm 682	9687 ^a \pm 398	0,19 \pm 0,82	0,84 \pm 1,16	426 \pm 95	1583 \pm 670	4304 ^a \pm 462	1413 ^a \pm 73
	Fe	2674 \pm 227	11568 ^a \pm 3182	0,08 \pm 0,57	0,61 \pm 0,86	435 \pm 99	1752 \pm 1192	4135 ^a \pm 1829	1467 ^a \pm 549
	2AE	2899 \pm 334	10461 ^a \pm 999	0,87 \pm 0,58	0,61 \pm 2,25	312 \pm 60	1491 \pm 256	4979 ^a \pm 889	1400 ^a \pm 239

Mittelwert \pm Standardabweichung (je n=4); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte (a<b; P<0,05) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test); Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; Elementgabe/Applikation je m⁻²: 7,0 g N als NH₄NO₃, 4,9 g P als K₂HPO₄ und 0,084 g Fe als Chelat (Fe(III)-EDTA) zugegeben sowie 0,4 g 2-Aminoethanol (2AE) als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; die Kontrollen blieben unbehandelt; n.w. ... nicht nachweisbar

Anlage 20: Versuch C – Pflanzenelementgehalte [$\mu\text{g g}^{-1}$ PfTM] nach Mikrowellenaufschluss Teil 2: Mg, Mn, Na, P und Zn

Spezies	Behandlung	Mg		Mn		Na		P		Zn	
		Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel	Spross	Wurzel
<i>Arrhenatherum elatius</i>	Ko.	2015 \pm 117	1775 \pm 139	87 \pm 11	110 \pm 5	643 ^a \pm 109	807 ^a \pm 46	4042 \pm 229	4298 ^{ab} \pm 664	26 \pm 3	42 \pm 6
	N	1930 \pm 187	1645 \pm 46	88 \pm 17	127 \pm 18	1847 ^b \pm 700	1533 ^b \pm 468	3829 \pm 651	3193 ^a \pm 347	24 \pm 4	44 \pm 10
	P	2149 \pm 95	1764 \pm 59	79 \pm 10	110 \pm 10	1668 ^b \pm 425	1527 ^b \pm 423	5029 \pm 1094	4401 ^{ab} \pm 709	30 \pm 11	41 \pm 5
	Fe	2135 \pm 178	1858 \pm 194	97 \pm 26	123 \pm 19	739 ^a \pm 15	885 ^a \pm 93	4155 \pm 1002	5182 ^b \pm 1564	27 \pm 3	35 \pm 4
	2AE	2101 \pm 111	1770 \pm 92	81 \pm 14	108 \pm 9	615 ^a \pm 199	741 ^a \pm 107	4462 \pm 833	4226 ^{ab} \pm 376	25 \pm 2	40 \pm 3
<i>Elymus repens</i>	Ko.	1970 \pm 133	1842 \pm 197	82 \pm 15	118 \pm 41	419 ^a \pm 100	594 ^a \pm 56	4799 \pm 845	4860 \pm 830	47 ^b \pm 18	57 \pm 6
	N	1561 \pm 151	1548 \pm 207	79 \pm 13	93 \pm 15	422 ^a \pm 101	737 ^{ab} \pm 113	4067 \pm 366	4696 \pm 710	25 ^a \pm 5	61 \pm 8
	P	1484 \pm 102	1634 \pm 58	81 \pm 5	102 \pm 8	875 ^b \pm 187	1038 ^c \pm 178	4371 \pm 228	5511 \pm 985	30 ^{ab} \pm 2	69 \pm 7
	Fe	1917 \pm 129	1734 \pm 201	99 \pm 13	99 \pm 14	494 ^a \pm 61	701 ^{ab} \pm 41	4648 \pm 565	4559 \pm 898	33 ^{ab} \pm 4	62 \pm 11
	2AE	1888 \pm 483	1673 \pm 144	109 \pm 26	109 \pm 12	670 ^a \pm 144	858 ^{bc} \pm 170	5459 \pm 1826	5376 \pm 1826	30 ^{ab} \pm 7	62 \pm 14
<i>Avena sativa</i>	Ko.	1559 \pm 89	1424 \pm 238	84 \pm 13	119 \pm 26	6766 \pm 1394	3037 ^a \pm 122	5584 \pm 485	8316 ^b \pm 3244	25 ^b \pm 3	67 ^b \pm 15
	N	1160 \pm 176	1538 \pm 345	75 \pm 14	144 \pm 22	9201 \pm 1066	4547 ^b \pm 1149	3949 \pm 617	5427 ^a \pm 1100	16 ^a \pm 2	42 ^a \pm 4
	P	1273 \pm 279	1261 \pm 134	89 \pm 19	117 \pm 9	8615 \pm 2737	3195 ^a \pm 227	4375 \pm 1077	4217 ^a \pm 288	17 ^a \pm 4	42 ^a \pm 7
	Fe	1298 \pm 160	1413 \pm 312	95 \pm 8	131 \pm 17	10488 \pm 1278	3688 ^{ab} \pm 104	4594 \pm 766	4638 ^a \pm 1203	19 ^a \pm 2	43 ^a \pm 5
	2AE	1481 \pm 177	1374 \pm 153	104 \pm 22	128 \pm 17	9573 \pm 2063	3661 ^{ab} \pm 841	5135 \pm 886	4453 ^a \pm 571	22 ^{ab} \pm 3	63 ^b \pm 13

Mittelwert \pm Standardabweichung (je n=4); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte (a<b<c; P<0,05) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test); Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschieben; Elementgabe/Applikation je m²: 7,0 g N als NH₄NO₃, 4,9 g P als K₂HPO₄ und 0,084 g Fe als Chelat (Fe(III)-EDTA) zugegeben sowie 0,4 g 2-Aminoethanol (2AE) als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; die Kontrolle (Ko.) blieb unbehandelt

Anlage 21: Versuch C – Biomasse und Prolinkonzentration von/in Spross und Wurzel, pH-Wert im durchwurzelten Boden sowie effektive und maximale Quantenausbeute (Chlorophyll-Fluoreszenz) der untersuchten Pflanzenspezies

Spezies	Behandlung	Biomasse [g PfTM m ⁻²]		Prolin [μmol g ⁻¹ PfTM]		Boden-pH-Wert	effektive Quantenausbeute (ΔF/F'm, Yield)	maximale Quantenausbeute (Fv/Fm)
		Spross	Wurzel	Spross	Wurzel			
<i>Arrhenatherum elatius</i>	Kontrolle	146 ± 30	164 ± 23	1,78 ± 0,70	1,02 ± 0,58	7,24 ^{ab} ± 0,02	0,592 ± 0,061	0,704 ± 0,022
	N	182 ± 64	93 ± 51	2,28 ± 0,37	1,40 ± 0,53	7,28 ^b ± 0,09	0,559 ± 0,033	0,629 ± 0,089
	P	119 ± 31	95 ± 47	4,26 ± 3,03	2,19 ± 1,53	7,26 ^b ± 0,01	0,613 ± 0,061	0,665 ± 0,039
	Fe	161 ± 39	174 ± 46	3,02 ± 1,05	1,32 ± 0,78	7,17 ^a ± 0,04	0,595 ± 0,058	0,689 ± 0,009
	2AE	118 ± 28	117 ± 42	2,95 ± 0,90	1,21 ± 0,55	7,16 ^a ± 0,03	0,616 ± 0,063	0,672 ± 0,041
<i>Elymus repens</i>	Kontrolle	38 ^a ± 29	43 ^a ± 21	4,49 ± 2,00	4,56 ± 2,31	7,13 ± 0,03	0,650 ^b ± 0,029	0,714 ± 0,023
	N	120 ^c ± 22	77 ^b ± 13	10,54 ± 4,58	9,78 ± 8,64	7,14 ± 0,03	0,577 ^a ± 0,054	0,733 ± 0,016
	P	41 ^a ± 10	35 ^a ± 20	6,86 ± 2,82	7,10 ± 4,76	7,18 ± 0,10	0,640 ^b ± 0,043	0,701 ± 0,034
	Fe	79 ^b ± 18	49 ^a ± 21	5,58 ± 2,34	5,20 ± 2,76	7,14 ± 0,06	0,664 ^b ± 0,057	0,714 ± 0,019
	2AE	49 ^a ± 9	39 ^a ± 9	4,44 ± 2,42	5,00 ± 2,29	7,11 ± 0,05	0,543 ^a ± 0,039	0,702 ± 0,019
<i>Avena sativa</i>	Kontrolle	443 ^a ± 230	64 ± 48	3,60 ± 0,51	0,37 ± 0,07	7,04 ^a ± 0,03	0,586 ± 0,028	0,621 ± 0,118
	N	1585 ^b ± 694	167 ± 48	5,02 ± 1,18	0,94 ± 0,66	7,18 ^b ± 0,05	0,513 ± 0,030	0,708 ± 0,024
	P	767 ^a ± 360	129 ± 58	3,00 ± 0,28	0,45 ± 0,25	7,13 ^b ± 0,04	0,523 ± 0,029	0,702 ± 0,046
	Fe	1006 ^{ab} ± 368	143 ± 56	3,56 ± 1,63	0,32 ± 0,09	7,19 ^b ± 0,04	0,580 ± 0,028	0,718 ± 0,029
	2AE	589 ^a ± 226	90 ± 16	3,05 ± 0,64	0,32 ± 0,08	7,16 ^b ± 0,02	0,570 ± 0,037	0,677 ± 0,053

Mittelwert ± Standardabweichung (je n=4); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte (a<b<c; P<0,05) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test); Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprosssschieben; Elementgabe/Applikation je m⁻²: 7,0 g N als NH₄NO₃, 4,9 g P als K₂HPO₄ und 0,084 g Fe als Chelat (Fe(III)-EDTA) zugegeben sowie 0,4 g 2-Aminoethanol (2AE) als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; die Kontrollen blieben unbehandelt

Anlage 22: Versuch C – Lösliches Protein nach Bradford und Quantifizierung der Aktivitäten der Superoxid-Dismutase-Isoenzyme mittels densitometrischer Auswertung der Gele

Spezies	Behandlung	Spross				Wurzel			
		Lösliches Protein	Mn-SOD	Cu/Zn-SOD ₁	Cu/Zn-SOD ₂	Lösliches Protein	Mn-SOD	Cu/Zn-SOD ₁	Cu/Zn-SOD ₂
		[mg g ⁻¹ TM]	[OD µg ⁻¹ Protein]	[OD µg ⁻¹ Protein]	[OD µg ⁻¹ Protein]	[mg g ⁻¹ TM]	[OD µg ⁻¹ Protein]	[OD µg ⁻¹ Protein]	[OD µg ⁻¹ Protein]
<i>Arrhenatherum elatius</i>	Kontrolle	9,86 ^{ab} ± 0,50	n.w.	578	418	4,67 ± 0,30	n.w.	1974	383
	N	10,34 ^{ab} ± 3,17	n.w.	594	374	6,17 ± 1,96	n.w.	1653	284
	P	8,76 ^{ab} ± 2,75	n.w.	783	587	5,09 ± 0,33	n.w.	2175	472
	Fe	3,69 ^a ± 1,23	n.w.	1521	535	3,36 ± 0,07	n.w.	2823	512
	2AE	15,11 ^b ± 3,07	n.w.	642	355	5,73 ± 0,32	n.w.	2272	361
<i>Elymus repens</i>	Kontrolle	8,80 ± 1,25	380	784	639	10,15 ± 0,03	329	863	184
	N	10,05 ± 2,20	282	747	380	10,00 ± 0,16	416	766	144
	P	15,87 ± 0,65	n.w.	571	539	10,17 ± 1,01	332	1031	199
	Fe	14,37 ± 2,11	337	996	686	8,02 ± 0,03	469	1216	204
	2AE	12,30 ± 2,27	n.w.	747	664	8,46 ± 0,95	414	942	184
<i>Avena sativa</i>	Kontrolle	10,56 ^b ± 0,25	n.w.	1953	1072	7,83 ± 0,71	n.w.	814	335
	N	7,68 ^{ab} ± 1,92	n.w.	1846	1251	6,91 ± 0,25	n.w.	1066	270
	P	6,05 ^a ± 1,83	618	3046	1180	6,43 ± 0,62	n.w.	1011	414
	Fe	11,04 ^b ± 0,21	583	2778	1058	7,66 ± 0,47	n.w.	1247	1083
	2AE	14,83 ^c ± 0,33	n.w.	1839	773	7,07 ± 0,56	n.w.	788	310

SOD-Aktivitäten/Flächenintegrale gemessen als optische Dichte [OD]; Gele 10 %ig (Native-PAGE); aufgetragene lösliche Proteinmenge 50 µg; Pflanzenernte nach Bestockung vor Sprossschoben; Elementgabe/Applikation je m⁻²: 7,0 g N als NH₄NO₃, 4,9 g P als K₂HPO₄ und 0,084 g Fe als Chelat (Fe(III)-EDTA) zugegeben sowie 0,4 g 2-Aminoethanol (2AE) als wässrige 10 mM Lösung im Zweiblattstadium aufgesprüht; die Kontrollen blieben unbehandelt; Mittelwert ± Standardabweichung für lösliches Protein (jeweils n=2); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant-unterschiedliche Mittelwerte (a<b<c; P<0,05) nach Einfaktorieller ANOVA (Student-Newman-Keuls-Test). n.w. ... nicht nachweisbar

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen, die mich beim Schreiben dieser Arbeit unterstützt haben bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Bergmann für die Themenstellung und wissenschaftliche Betreuung der Dissertation. Seine freundschaftlichen Ratschläge, seine kritische Sicht, aber vor allem seine Begeisterung für die Wissenschaft haben viel zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Prof. Dr. G. Büchel danke ich für die freundschaftliche Unterstützung bei der Durchführung meines Promotionsvorhabens und die Betreuung meiner Dissertation an der Chemisch-Geowissenschaftlichen Fakultät.

Des Weiteren danke ich PD Dr. G. Jettschke für die schnelle Hilfe bei schwierigen Fragen der Statistik und die oft gewährte praktische Unterstützung bei der Chlorophyll-Fluoreszenz-Bestimmung, der GPS-Messung im Gelände oder sonstigen technischen Angelegenheiten.

Frau Dr. B. Lippmann danke ich für ihre Geduld beim kritisches Korrekturlesen der Arbeit. Ihre Hinweise und ihr Engagement waren mir eine große Hilfe.

Weiterer Dank gebührt den übrigen Mitarbeitern und Kollegen des Lehrbereiches Lebensmittelkunde Dr. B. Machelett, H. Ruhm, E. Schwarz, Dr. R. Mascher, Dr. H. Schönbuchner, K. Voigt, R. Spaude, K. Kalmring, Dr. A. Nagoe, N. Hahn und W. Scheiding für die Einweisung in molekularbiologische Methoden und die Einarbeitung an der ICP-OES. Ihre bereitwillige praktische Unterstützung und die freundschaftlichen Diskussionen lösten so manches Problem. Meiner Kollegin K. Zirr danke ich für die Begleitung meiner Arbeit, für ihre vielen Anregungen und für die ständige Bereitschaft mich aufzumuntern. Von ihr habe ich sehr viel gelernt.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die finanzielle Förderung des Forschungsvorhabens und die Gewährung eines Stipendiums ohne das, die Arbeit nicht zu leisten gewesen wäre. Besonders dankbar bin ich für die Möglichkeiten und Freiheiten wissenschaftliche Ergebnisse auf deutschen und internationalen Kongressen vorzustellen. Das von der DFG finanzierte Arbeitstreffen mit Prof. Dr. R. McLaren von der Lincoln University (Christchurch, Neuseeland) in Jena war ein Höhepunkt meiner Tätigkeit und lieferte mir wertvolle Erkenntnisse, die sich in dieser Arbeit niederschlugen.

Meiner Familie und meinen Freunden möchte ich für die Gespräche danken, die mir den zur Arbeit nötigen Ausgleich schafften. Meinen Eltern danke ich dafür, dass sie immer an mich glaubten. Meiner Frau Katja danke ich für ihren steten Ansporn, ihre Geduld und ihre Liebe, meinen Söhnen Ronin und Luis für ihr Lachen und ihre Fröhlichkeit, die mir immer wieder neue Kraft gaben.

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre,

dass mir die geltende Promotionsordnung der Fakultät bekannt ist;

dass ich die Dissertation selbst angefertigt und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben habe;

dass die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen;

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe;

dass ich nicht die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder andere Abhandlung bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, 03.08.2009

Remo Rothe

Lebenslauf

Angaben zur Person

Name: Remo Rothe
Geburtsdatum: 22. Oktober 1975
Geburtsort: Jena
Familienstand: verheiratet, zwei Kinder

Ausbildung

Sept. 1982 – Aug. 1990 Polytechnische Oberschule Dorndorf/Saale
Sept. 1990 – Juni 1995 Technisches Gymnasium Jena; Realschulabschluss und Abitur im Hauptfach Datenverarbeitungstechnik
Juli 1995 – Juni 1996 Bundeswehr in Tautenhain, Hilfsausbilder Kfz-Panzerschlosser
Okt. 1996 – März 2002 Studium der Ernährungswissenschaft an der Friedrich-Schiller-Universität Jena am Institut für Ernährung und Umwelt, Abschluss als Diplom Trophologe;
Diplomarbeit „Glufosinat-Einfluss auf Inhaltsstoffe in Rapsgenotypen (*Brassica napus* L.) mit unterschiedlicher Herbizidresistenz“

Beruflicher Werdegang

Mai 2002 – April 2007 Wissenschaftlicher Mitarbeiter bei Prof. Dr. H. Bergmann und Prof. Dr. G. Büchel an der Biologisch-Pharmazeutischen bzw. Chemisch-Geowissenschaftlichen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena - als Stipendiat der Deutschen Forschungsgesellschaft im Graduiertenkolleg „Funktions- und Regenerationsanalyse belasteter Ökosysteme“
Juni 2005 Teilnahme an DAAD-Wissenschaftler-Austausch zwischen Bulgarien und Deutschland am Institut für Kryobiologie und Lebensmitteltechnologie in Sofia
seit Mai 2007 Stellvertretender Laborleiter beim Blutspendedienst-Ost gemeinnützige GmbH am Institut Cottbus
seit Juli 2008 Leiter der Qualitätskontrolle für den Bereich Stammzelle beim Blutspendedienst-Ost gemeinnützige GmbH am Institut Cottbus

Veröffentlichungen

- Rothe R, Hartung H, Marks G, Bergmann H & Schöne F (2002): Glucosinolate in konventionellem Raps und Hybridraps unter dem Einfluss des *pat*-Gens und einer Glufosinatapplikation. XXXVII. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung – Pflanzliche Nahrungsmittel e.V. (DGQ) in Hannover. *Tagungsband*, 121.
- Rothe R, Hartung H, Marks G, Bergmann H & Schöne F (2003): Glucosinolates in conventional cultivars and hybrid cultivars of *Brassica napus* L. with the influence of *pat*-gene and a glufosinate application. *Proceedings of the 11th International Rapeseed Congress (GCIRC)* in Kopenhagen **1**, 257-259.
- Rothe R, Hartung H, Marks G, Bergmann H & Schöne F (2003): Glucosinolate und weitere Bestandteile von *Brassica napus* L. unter dem Einfluss des *pat*-Gens und einer Glufosinat-anwendung. *UFOP-Schriften* **20**, 305-310.
- Rothe R, Hartung H, Marks G, Bergmann H & Schöne F (2004): Glucosinolates of rapeseed crop with regard to plant part, cultivar and further influences. 1st International Biofumigation Symposium Florenz. *Tagungsband*, 23.
- Rothe R, Hartung H, Marks G, Bergmann H & Schöne F (2004): Glucosinolate contents in vegetative tissues of winter rape cultivars. *Journal of Applied Botany and Food Quality* **78**, 41-47.
- Rothe R (2004): Stress reaction of grasses after different nutrient supplementation in soil – International Workshop - Present State and Future Perspectives of Restoration Ecology - des Graduierten Kollegs „Funktions- und Regenerationsanalyse belasteter Ökosysteme“ in Jena, *Vortrag*.
- Rothe R & Bergmann H (2006): Free Proline – A sensitive biomarker in *Arrhenatherum elatius* (L.) J. & C. Presl under phosphate-stress in soil. 5th Bio-Geo-Kolloquium Jena, *Tagungsband*, 35.
- Blanke V, Schulze B, Gerighausen U, Küster S, Rothe R, Schulze H & Sineriz M (2007): The Power of regeneration: lessons from a degraded grassland. *Restoration Ecology* **15**, 307-311.

Jena, 03.08.2009

Remo Rothe